

**Institut für Labortierkunde  
der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich  
Direktor: Prof. Dr. Kurt Bürki  
Angefertigt unter Leitung von Dr. Gregor Fischer**

---

**Untersuchungen zu *Syphacia muris* in einer  
pharmazeutischen Versuchstierhaltung:  
Diagnose, Therapie und Management**

**INAUGURAL DISSERTATION  
zur Erlangung der Doktorwürde der  
Veterinärmedizinischen Fakultät  
der Universität Zürich**

**Vorgelegt von  
Aziz Cetinsu  
Tierarzt aus Yildizeli, TR**

**Genehmigt auf Antrag von  
Prof. Dr. Kurt Bürki, Referent  
Prof. Dr. Peter Deplazes, Korreferent**

**Zürich 2008**

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abstract</b> .....	<b>4</b>
<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>5</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>6</b>
<b>1 EINLEITUNG</b> .....	<b>7</b>
1.1 Allgemeine Problemstellung.....	7
<b>2 ERREGER</b> .....	<b>9</b>
2.4 Lebenszyklus von <i>Syphacia muris</i> .....	11
2.5 Verbreitung von <i>Syphacia muris</i> .....	13
2.6 Infektionsmodus .....	14
2.7 Wirtsspektrum .....	15
2.8 Empfänglichkeit verschiedener Stämme und Abhängigkeit von Alter und Geschlecht .....	16
2.9 Pathogenese und klinische Symptome .....	17
2.10 Diagnose .....	18
2.10.1 Probenanzahl gemäss FELASA-Empfehlungen .....	18
2.10.2 Tageszeit der Probenahme .....	19
2.10.3 Diagnoseverfahren .....	19
2.11 Therapie.....	20
2.11.2 Therapieversuche bis in die achtziger Jahre .....	20
2.11.3 Therapiemöglichkeiten ab den achtziger Jahren .....	21
2.11.3.1 Fenbendazol.....	21
<b>3 MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>25</b>
3.1 Material .....	25
3.1.1 Versuchstiere .....	25
3.1.2 <i>Syphacia muris</i> als Antigen .....	25
3.2 Herkunft und Haltungsbedingungen der Versuchstiere.....	26
3.2.1 F. Hoffmann-La Roche Ltd, Basel .....	26
3.2.2 Institut für Labortierkunde der Universität Zürich .....	27
3.3 Methoden .....	28
3.3.1 Klebestreifenmethode.....	28
3.3.2 Versuch 1 .....	29
3.3.3 Behandlung der Versuchstierkolonie .....	32

3.3.4 Versuch 2 .....	33
3.3.5 Serologie mittels ELISA.....	34
<b>4 RESULTATE .....</b>	<b>35</b>
4.1 Versuch 1.....	35
4.1.1 Ort der Probenahme.....	35
4.1.2 Der tageszeitliche Ei-Ausscheidungsrythmus je nach Haltungsart.....	37
4.1.3 Behandlungserfolg.....	39
4.2 Versuch 2.....	40
4.2.1 Der tageszeitliche Ei-Ausscheidungsrythmus je nach Geschlecht .....	40
4.2.2 Serologie .....	42
<b>5 DISKUSSION .....</b>	<b>43</b>
5.1 Die Untersuchungsmethode.....	43
5.2 Der tageszeitliche Untersuchungszeitpunkt .....	45
5.3 Management von <i>Syphacia muris</i> -Infektionen in Zuchtbetrieben.....	46
5.4 Management von <i>Syphacia muris</i> -Infektionen in der Forschung .....	47
5.5 Flankierende Massnahmen.....	51
5.6 Empfehlungen.....	52
5.6.1 Wirkstoff .....	52
5.6.2 Behandlungsdauer .....	52
5.6.3 Tiermanagement .....	52
5.6.4 Sensibilisierung der Mitarbeiter .....	53
5.7 Schlussfolgerung.....	54
<b>6 ANHANG: ERGEBNISSTABELLEN .....</b>	<b>55</b>
<b>7 LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>68</b>

## Abstract

*Syphacia muris* is still a common parasite in laboratory animals. Infection can result in deleterious effects on growth, immunity and the physiology of the host. *S. muris* is considered as an important indicator species for poor hygiene.

This paper describes the successful eradication of an *S. muris* infection in a laboratory animal colony using Fenbendazol and Ivermectin. Ongoing trials were not interrupted and hence depopulation followed by decontamination and repopulation of the colony has been avoided.

Over 2000 rats were housed in 16 rooms in 5 separate buildings. *S. muris* infection was diagnosed in the rats in January 2006 during a regular health check using the perianal cellophane tape method. The eradication programme has now been implemented continuously for a 5 months period. Monitoring was undertaken monthly by the standard checks of sentinel rats by an accredited laboratory and by the examination of at least one rat from each cage with the adhesive tape method.

To determine the optimal examination time, the diurnal egg cell excretion rhythm of a naturally infected laboratory animal colony has been defined by means of the adhesive tape method. To diagnose future chronic infections on a colony level, an ELISA has been developed using raw antigen from *S. muris* adults.

Based on the experiences gained from these experiments recommendations for the eradication of *S. muris* in the laboratory animal colonies have been developed.

## Zusammenfassung

*Syphacia muris* ist ein in Labortierhaltungen immer noch häufig anzutreffender Parasit, dessen negative Einflüsse auf Wachstum, Immunität und Verdauungsphysiologie des Wirtes bereits beschrieben wurden. Bei der Beurteilung von Hygieneberichten gilt *S. muris* als wichtiger Indikatorkeim.

In dieser Arbeit wird die erfolgreiche Eradikation einer *S. muris*-Infektion durch den Einsatz von Fenbendazol und Ivermectin in einer Labortierhaltung vorgestellt. Hierbei wurden die laufenden Versuche nicht unterbrochen und es fand keine Dekontamination, Depopulation und anschliessende Repopulation statt.

Mehr als 2000 Ratten einer pharmazeutischen Firma wurden in insgesamt 5 Gebäuden und 16 Tierräumen gehalten und in mehreren Labors für ZNS-Forschung, Stoffwechselforschung und toxikologische Versuche eingesetzt. Die *S. muris*-Infektion der Ratten wurde im Januar 2006 im Rahmen einer routinemässigen Gesundheitskontrolle mittels der Klebestreifenmethode diagnostiziert. Nach sorgfältiger Planung und Sensibilisierung der Mitarbeitenden wurde das Eradikationsprogramm während 5 Monaten ohne Unterbrechung durchgeführt. Neben den periodischen Hygieneuntersuchungen von Sentinel-Ratten durch ein akkreditiertes Labor, wurde monatlich mindestens je eine Ratte pro Käfig mittels Klebestreifenmethode auf *S. muris* hin untersucht.

Um den bestmöglichen Untersuchungszeitpunkt bestimmen zu können, wurde an einer natürlich infizierten Versuchstierkolonie der tageszeitliche Ei-Ausscheidungsrythmus mit Hilfe der Klebestreifenmethode bestimmt. Um auf Bestandesebene zukünftig auch chronische Infektionen nachweisen zu können, wurde mit Rohantigen von *S. muris* Adultwürmern ein ELISA entwickelt.

Aufgrund der in diesen Versuchen gewonnenen Erfahrungen wurden Empfehlungen für die Eradikation von *S. muris* aus Labortierhaltungen abgegeben.

## Abkürzungsverzeichnis

CT	Computer Tomographie
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FELASA	Federation of European Laboratory Animal Science Association
g	Gramm
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
GLP	Gute Laborpraxis (Good Laboratory Practice)
GV-SOLAS	Gesellschaft für Versuchstierkunde- Society for Laboratory Animal Science
KGW	Körpergewicht
LD 50	Letaldosis 50
L1-L4	Larvenstadium 1-4
MA, MB, MC, MD	Männliche Tiere in den Gruppen A-D
MK	Männliche Kontrolltiere
MRI	Magnetresonanztomographie (Magnetic Resonance Imaging)
nm	Nanometer
OD	optische Dichte 405 nm
PBS	Phosphate Buffered Saline
ppm	Teile pro Million (parts per million)
rpm	Umdrehungen pro Minute (revolutions per minute )
SPF	Spezifiziert Pathogen frei
WA, WB	Weibliche Tiere in den Gruppen A und B
WK	Weibliche Kontrolltiere
ZNS	Zentrales Nervensystem

# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Allgemeine Problemstellung

Gesicherte und vergleichbare Resultate in standardisierten Versuchen sind nur dann zu erwarten, wenn mit einwandfreiem Ausgangsmaterial und hygienisch und genetisch definierten Tieren gearbeitet wird. Dieses Postulat ist schon lange bekannt und hat dazu geführt, dass in den letzten Jahren Fortschritte beim Aufbau genetisch definierter SPF-Labortierzuchten erzielt werden konnten. Trotz all dieser Fortschritte ist *S. muris* immer noch ein häufig anzutreffendes Parasiten-Problem in Labortierhaltungen.

In der Regel verursachen *S. muris*-Infektionen bei Ratten, abgesehen von vermehrtem Juckreiz und Unruhe, keine klinisch erkennbaren Symptome. Trotzdem gibt es gewichtige Gründe diese zu bekämpfen. Dieser Parasit ist einer von vielen Indikatorkeimen, um den Hygienestatus eines Instituts zu beurteilen. Resultate aus Versuchen, die mit *S. muris*-infizierten Ratten durchgeführt wurden, sind fraglich. Es wurde nachgewiesen, dass *S. muris*-Infektionen die Elektrolyt-Absorption im Darm herabsetzen, die Wachstumsrate der infizierten Tieren reduzieren und die Entwicklung des mikrosomalen Monooxygenase-Systems in der Leber beschleunigen kann.

Obwohl Diagnose und Behandlung einfach und effizient sind, gestaltet sich die Eradikation in der Praxis eher schwierig. Um ein erfolgreiches Eradikationsprogramm zu gestalten, sind folgende Aspekte zu beachten:

- *S. muris* hat einen direkten Lebenszyklus mit sehr starker Reproduktion.
- Die Parasiten-Eier können in der Umgebung über längere Zeit infektiös bleiben (ECKERT, 1992, HASSLINGER und WIETHE, 1987).
- In einer epidemiologischen Einheit müssen alle möglichen Infektionsquellen, wie Tiere, Versuchseinrichtungen, Haltungsräume, diagnostische Einheiten wie MRI und CT, usw., genau identifiziert werden.
- Die Einschleppungsgefahr durch neue Tieranlieferungen und durch Mitarbeiter ist erheblich.
- Die durchgeführten Behandlungen dürfen die laufenden Versuche nicht stören.

## 1.2 Ziele dieser Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist, mehr über den Erreger zu erfahren und mit diesen Erkenntnissen eine geeignete Eradikationsmethode zu etablieren, um so ein Institut, dessen Tierhaltungsräume und Laboreinrichtungen mit *S. muris* kontaminiert sind, mit einem effizienten und praxistauglichen Eradikationsprogramm zu sanieren. Anschliessend sollen die nötigen, in einem pharmazeutischen Institut durchführbaren Massnahmen getroffen werden, um die Eradikation von *S. muris* langfristig zu gewährleisten. Zudem soll dieser Status mit einem praxistauglichen Kontrollsystem überwacht werden, um eine Reinfektion sofort festzustellen und wieder ausmerzen zu können, bevor sich *S. muris*-Eier in den gesamten Labortierhaltungen erneut verbreiten können.

Es sollen in dieser Arbeit anhand von parasitologischen und serologischen Untersuchungen folgende Fragestellungen beantwortet werden:

- a. Wo genau auf der Körperoberfläche und in der unmittelbaren Umgebung des Wirtes sind *S. muris*-Eier mikroskopisch nachweisbar? (Kapitel 3.3.2 und 4.1.1)
- b. Hat *S. muris* eine tageszeitlich rhythmische Eier-Ausscheidung, wie es im Jahre 1967 von van der GULDEN beschrieben wurde? (Kapitel 3.3.2, 4.1.2 und 4.2.1)
- c. Ist die Eradikation durch den Einsatz von antiparasitären Wirkstoffen ohne Desinfektion und Depopulation möglich? (Kapitel 3.3.3 und 4.1.3)
- d. Entstehen während einer *S. muris*-Infektion spezifische Antikörper, welche mittels ELISA diagnostiziert werden können? (Kapitel 4.2.2)
- e. Welche flankierenden Massnahmen sollten getroffen werden, um das geplante Eradikationsprogramm erfolgreich umzusetzen und um eine Reinfektion zu verhindern? (Kapitel 5.5 und 5.6)

Die oben erwähnten Fragestellungen wurden im Versuch 1 bei F. Hoffmann-La Roche Ltd, Basel und im Versuch 2 am Institut für Labortierkunde der Universität Zürich abgeklärt.



## 2 ERREGER

### 2.1 Systematik des Parasiten (ECKERT, 1992)

**Stamm:** Nematoda

**Klasse:** Secernentea

**Ordnung:** Oxyurida

**Familie:** Oxyuridae

**Gattung:** Syphacia

**Art:** *Syphacia muris*



Abbildung 2.1: *Syphacia muris* L4

## **2.2 Die Gattungen der Familie Oxyuridae** (ECKERT,1992)

- Oxyuris: *Oxyuris equi*, Erreger der Oxyuridose der Equiden
- Enterobius: *Enterobius vermicularis*, Erreger der Enterobiose beim Menschen und Primaten
- Passalurus: *Passalurus ambiguus*, Erreger der Passalurose beim Kaninchen
- Skrjabinema: *Skrjabinema ovis*, Erreger der Skrjabinemose bei Schaf, Ziege und Mufflon
- Syphacia: *Syphacia muris*, Erreger der Syphacia-Infektion primär bei Ratten  
*Syphacia obvelata*, Erreger der Syphacia-Infektion primär bei Mäusen

## **2.3 Allgemeine Eigenschaften der Oxyuridae** (ECKERT, 1992)

- Langgestreckte, spindelförmige Helminthen mit rundem Querschnitt.
- Primäre Leibeshöhle ohne Füllgewebe (Pseudozöl).
- Keine Atmungs- und Zirkulationsorgane.
- Nahrungsaufnahme durch den Darm, bei niedermolekularen Stoffen Absorption durch das Integument.
- Energiegewinnung vorwiegend durch anaeroben Katabolismus.
- Geschlechtlich getrennt.
- Männliche Würmer sterben nach der Kopulation, die Weiblichen nach der Eiablage und Rückkehr ins Rektum.
- Eier enthalten schon eine Larve (ovovivipar), wenn sie im Perianalbereich abgelegt werden.
- Entwicklung: vom Ei über 4 Larvenstadien (L1-L4) zum adulten Stadium, welches die Geschlechtsreife erlangt.
- Direkter Lebenszyklus ohne Zwischenwirt.

## 2.4 Lebenszyklus von *Syphacia muris*

Der Lebenszyklus von *S. muris* ist einfach und direkt, ohne Zwischenwirt. Die natürlichen Hauptwirte, Ratten, infizieren sich mit infektiösen Eiern direkt am Perianalbereich der bereits infizierten Ratten oder via kontaminiertes Material wie Futter, Wasser, Einstreu, Instrumenten und Umgebung (STAHL, 1963). Der Mensch spielt als Vektor auch eine wichtige Rolle. Die bei der *E. vermicularis* beschriebene Retroinfektion (Autoinfektion) durch Larven aus dem Perianalbereich, welche zurück ins Colon wandern, wurde auch bei *S. muris* vermutet, nachdem die Larven im Rektum und im distalen Colon gesichtet wurden (STAHL, 1963).

Bei der Untersuchung des Lebenszyklus von *S. muris* hat STAHL (1963) herausgefunden, dass die *S. muris*-Entwicklung hauptsächlich im Caecum des Wirtes stattfindet. Die Kopulation findet am 4. Tag nach der Aufnahme von infektiösen Eiern statt. Ab dem 7. Tag wandern weibliche Nematoden weiter vom Caecum Richtung distal, um im Perianalbereich die Eier abzulegen. Die Präpatenzzeit beträgt 7.5 Tage.

In elektronenmikroskopischen Untersuchungen haben LEWIS und D`SILVA (1986) beobachtet, dass sich L1<sup>1</sup> schon in der Ei-Schale entwickelt, L2 nach ca. 18 bis 24 Stunden, L3 nach ca. 40-48 Stunden und L4 nach ca. 66-72 Stunden nach der oralen Aufnahme von infektiösen Eiern. Die adulten *S. muris* sind ca. 96 Stunden nach der Infektion im Caecum zu finden. Sie sind bereit zur Kopulation. Ein gedecktes *S. muris* Weibchen trägt im Uterus ca. 450-550 Eier (PRITCHETT und JOHNSTON, 2002). Anschliessend wandert es nach distal in den Intestinaltrakt, um die Eier im Perianalbereich abzulegen. Nach der Rückkehr ins Rektum verstirbt es. Die Parasitenwanderung verursacht starken Juckreiz am After und veranlasst die Ratte sich zu putzen. Dadurch nehmen die Ratten erneut die infektiösen Eier auf und somit schliesst sich der Lebenszyklus von *S. muris*.

Die Entwicklung der L1 in der Ei-Schale verleiht dem Parasiten eine hohe Überlebensfähigkeit gegenüber Umwelteinflüssen und Desinfektionsmitteln. Es existieren keine gesicherten Erkenntnisse darüber, wie lange diese Eier infektionstüchtig bleiben. Alle Eradikationsprogramme, deren Dauer kürzer als drei Monate war, scheiterten. Dies könnte ein Hinweis dafür sein, dass diese Eier bis zu drei Monaten oder mehr in der Umwelt infektionstüchtig bleiben.

Männliche *S. muris* sterben nach der Kopulation schon im Caecum ab. Die Untersuchungen von LEWIS und D`SILVA (1986) bestätigen, dass das Verhältnis von männlichen zu weiblichen Würmern im Darm der infizierten Ratten ab dem 4. Tag stark abnimmt.

---

<sup>1</sup> L1 = Larve 1

Eine ähnliche Biologie der männlichen Würmer, wurde auch bei *O. equi* und *E. vermicularis* beschrieben (ECKERT, 1992 und KAYSER, 2005). Auch GOETERS (1952) berichtet, dass *E. vermicularis*-Männchen nach der Begattung zugrunde gehen und zum grössten Teil durch die Verdauungssäfte abgebaut werden.

Zeit		Entwicklungsstadien	Ort der Entwicklung
Std.	Tag		
0	0	L1 in der Ei-Schale	In der Umgebung, Perianalbereich der infizierten Tiere
24	1	L2	Caecum
48	2	L3	Caecum
72	3	L4	Caecum
96	4	Adulte Würmer Kopulation	Caecum
120	5	Männliche Würmer sterben nach der Kopulation ab	Caecum
144	6	Im Uterus entwickeln sich Eier	Caecum
168	7	Weibliche Würmer wandern nach distal	Caecum / Colon
180	7.5	Eiablage nach dem Kontakt mit Luft	Rektum
180	7.5	Absterben der weiblichen Würmer nach der Rückkehr ins Rektum	Rektum

**Tabelle 2.1: Lebenszyklus von *S. muris***

## 2.5 Verbreitung von *Syphacia muris*

Es muss davon ausgegangen werden, dass die überwiegende Mehrzahl, nicht hinter Barrieren gehaltener Ratten mit *S. muris* infiziert ist, doch Barrierenhaltung schliesst ihr Auftreten nicht völlig aus. Bei Stichproben aus sieben konventionellen Haltungen von Züchtern in Deutschland, liessen sich bei 94.9% der Proben Eier von *S. muris* nachweisen (HASSLINGER und WIETHE, 1987). Sammelkotproben wurden mikroskopisch mittels NaCl/ZnCl<sub>2</sub>-Flotationsmethode untersucht, wobei diese Methode eine relativ geringe Sensitivität aufweist.

PANTCHEV et al. (2005) haben die Verbreitung von *S. muris* in der Hobbytierhaltung in Deutschland untersucht und in 5.2% der entnommenen Kotproben *S. muris* nachgewiesen. PANTCHEV et al. (2005) haben die Kotproben mittels der Flotationsmethode untersucht. Diese Methode ist gemäss den Autoren nicht sehr sensitiv, bezüglich *P. ambiguus*, einem Parasit aus der Familie Oxyuridae, wie auch bezüglich *S. muris*. Ebenfalls wurde die Probeentnahmezeit nicht angegeben. Probeentnahmezeit wie auch Untersuchungsmethode können die Resultate stark beeinflussen (PANTCHEV et al., 2005, van der GULDEN, 1967). Tatsächlich muss die Verbreitung der *S. muris*-Infektionen in der Hobbytierhaltung höher als die angegebenen 5.2% sein (Eigene Beobachtungen, siehe Kapitel 5.4).

Bei Untersuchungen mittels Klebestreifenmethode in konventionellen Labortierhaltungen in Japan im Jahr 1979 wiesen 100% der Ratten Infektionen mit *Syphacia* sp. auf (KAMIYA et al., 1979).

In Grossbritannien wurden bei Ratten von anerkannten Züchtern auch *Syphacia* sp. in 38.8% der Proben gefunden. In diesem Bericht wurden leider keine näheren Angaben über die Untersuchungsmethode und die *Syphacia*-Art gemacht (SPARROW, 1976).

## 2.6 Infektionsmodus

*S. muris*-Infektionen finden durch orale Aufnahme infektiöser Eier statt. Die Eier befinden sich entweder in der Umgebung oder im Perianalbereich einer mit *S. muris*-infizierten Ratte (STAHL, 1963). Es wird vermutet, dass ca. 80% der Neuinfektionen durch die Tiere selbst oder durch biologische Materialien tierischer Herkunft stattfinden (mündliche Mitteilungen von B. Illgen-Wilcke, Fachwissenschaftlerin für Versuchstierkunde, MicroBioS GmbH, CH-Reinach, BL). Eine andere, wichtige Infektionsquelle ist der Mensch, welcher vermutlich für ca. 15% aller Neuinfektionen in den Labortierhaltungen verantwortlich ist (mündliche Mitteilungen von B. Illgen-Wilcke, Fachwissenschaftlerin für Versuchstierkunde, MicroBioS GmbH, CH-Reinach, BL). Für die *S. muris*-Infektionen ist dieser Punkt bedeutend. Er wird im Abschnitt 5.4 *Management von S. muris-Infektion in einem pharmazeutischen Institut* näher beschrieben.

Die Einschleppung von *S. muris* in Labortierhaltungen findet bei der Anlieferung von infizierten Ratten seitens der Züchter (WEISS, 1981) oder durch die Einschleppung seitens der Mitarbeiter statt. Auf dem gleichen Weg wird die Umgebung kontaminiert. Infektiöse *S. muris*-Eier persistieren in Laboreinrichtungen und in der Umgebung weiter und stellen eine ständige Gefahr für Neuinfektionen dar.

Futter und Wasser als Infektionsquellen spielen eine wichtige Rolle, sowohl für die Verbreitung diverser Erreger in der privaten Tierhaltung, als auch in der Labortierhaltung. In Bezug auf *S. muris*-Infektionen stellen diese in den Labortierhaltungen jedoch keine Ansteckungsquelle dar, da Futter und Wasser in der Regel kontrolliert werden.

Die bei der Enterobiose des Menschen beschriebene Retroinfektion (Autoinfektion) wird auch bei *S. muris* vermutet, nachdem PRINCE (1950) die Larven im Perianalbereich der infizierten Ratten fand. Dieser Infektionsweg ist für ein Eradikationsprogramm allerdings nicht von grosser Bedeutung, da die empfänglichen Tiere dadurch keiner zusätzlichen Gefahr ausgesetzt sind.

Nach WESCOTT et al. (1976) kann man mit Hilfe von Filterkäfigen die aerogene Ansteckung signifikant reduzieren. In ihrer Arbeit haben sie 18 Käfige mit Filtern und 16 Käfige ohne Filter in infizierten Mauskolonien platziert, ohne mit diesen Tieren Experimente durchzuführen. 3-8 Wochen danach wurden die Mäuse euthanasiert und untersucht. Die Mäuse in 17 von 18 Käfigen mit Filtern waren immer noch frei von *S. obvelata* und *A. tetraptera*, während die Mäuse in 12 von 16 Käfigen ohne Filter die Parasiten beherbergten.

Die Untersuchungen von WESCOTT et al. (1976) sind ein Hinweis dafür, dass die aerogene Übertragung auf kurze Distanz möglich ist. In einem pharmazeutischen Institut mit hohen Tierzahlen werden verschiedene Rattenstämme in den Tierhaltungsräumen gemeinsam gehalten. Die infizierten Ratten stellen eine dauernde Gefahr für andere, empfängliche Ratten dar.

## **2.7 Wirtsspektrum**

Obwohl die Ratte der Hauptwirt von *S. muris* ist, können auch andere Nagetiere wie Maus, Hamster und Gerbil mit dieser Art befallen werden. ROSS et al. (1980) ist es gelungen, Mäuse, Hamster und Gerbils mit *S. muris* zu infizieren und von denselben Tieren ausgehend, wieder Ratten zu infizieren. In dieser Arbeit wird sogar beschrieben, dass es möglich sei, dass *S. muris* Rhesus Affen und Menschen befallen kann. Dies deutet darauf hin, dass die Ratte nicht der einzige Wirt von *S. muris* ist. In einem pharmazeutischen Institut müssen diese Aspekte berücksichtigt werden, um *S. muris* erfolgreich zu eliminieren. Neben infizierten Ratten stellen auch Mäuse, Hamster und Gerbils eine ständige Gefahr für eine Neuinfektion dar.

## **2.8 Empfänglichkeit verschiedener Stämme und Abhängigkeit von Alter und Geschlecht**

Im Allgemeinen ist die Befallsintensität von Infektionen mit Helminthen, bei weiblichen Ratten geringer als bei männlichen, obwohl die Befallsextenstität bei beiden Geschlechtern gleich hoch ist (ZUK, 1990, ALEXANDER und STIMSON, 1988, PRITCHETT und JOHNSTON, 2002). Die Immunantwort auf akute und chronische Infektionen ist bei männlichen Individuen aufgrund der Testosteron-Wirkung eher geringer, als bei den weiblichen (ALEXANDER und STIMSON, 1988). Dies hat zur Folge, dass Männchen für parasitäre Infektionen eher empfänglicher sind und eher einen schwereren Verlauf zeigen, als die Infektionen bei den Weibchen. Die *S. muris*-Ausscheidung bei männlichen Ratten ist intensiver (siehe Tabellen 4.4 und 4.5) und dauert in der Regel länger als bei weiblichen Ratten (eigene Beobachtungen).

Die Rolle der Sexualhormone bei der Immunantwort ist sicherlich ein entscheidender Faktor, wichtiger jedoch ist der genotypische Hintergrund. MATSUZAWA (1986) hat festgestellt, dass verschiedene Rattenstämme auf *S. muris*-Infektionen unterschiedlich reagieren. Er hat Sprague-Dawley-, Fischer- und Wistar-Ratten miteinander verglichen und festgestellt, dass Fischer-Ratten am empfänglichsten für eine *S. muris*-Infektion sind. Obwohl er alle Ratten mit 96-104 *S. muris*-Eiern infizierte, konnte er bei Fischer-Ratten durchschnittlich 83, bei Sprague-Dawley-Ratten durchschnittlich 58 und bei Wistar-Ratten durchschnittlich 32 Würmer im Caecum und Colon nachweisen. Auch die Anzahl der ausgeschiedenen Eier war bei den Fischer-Ratten höher, als bei den übrigen Stämmen.

DEROTHE et al. (1997) haben nachgewiesen, dass wilde Mäuse für Syphacia-Infektionen empfänglicher sind, als die in Labors gehaltenen Mäuse. Sie haben dieses Phänomen so erklärt, dass die Labormäuse von Vorfahren mit einer Resistenz gegenüber Syphacia-Infektionen abstammen. Weil verschiedene Ratten- und Mäusestämme unterschiedliche Empfindlichkeiten auf eine *S. muris*-Infektion zeigen, ist der Genotyp für diese Resistenz entscheidend.

WAGNER (1988) hat berichtet, dass die Anzahl der Parasiten mit dem Alter abnimmt. In seinen Untersuchungen hat er gezeigt, dass ca. 4 Wochen alte Ratten im Durchschnitt bis 111 Würmer beherbergen, dagegen 44 Wochen alte Ratten nur 12 Würmer und einjährige Ratten sogar nur noch 1-2 Würmer. Dies zeigt deutlich, dass sich mit der Zeit eine Resistenz entwickelt.

SCOTT und GIBBS haben schon im Jahr 1986 vermutet, dass sich eine Immunität im Verlauf der Infektion mit Oxyuridae entwickelt, wodurch die Befallsintensität abnimmt. SATO et al. (1995) hat die Antikörperbildung bei Mäusen, die mit *S. obvelata* infiziert waren, mittels ELISA untersucht.



## **2.9 Pathogenese und klinische Symptome**

TAFFS (1976), HASSLINGER und WIETHE (1987) berichten, dass *S. muris*-Infektionen bei Ratten trotz teilweise starkem Befall klinisch symptomfrei verlaufen. Es wurden aber immer wieder Berichte über Rektumprolaps, mukoide Enteritis von Caecum und Colon, Abszesse oder granulomatöse Veränderungen in den mesenterialen Lymphknoten, sowie Wachstumsverzögerungen bei jungen Ratten publiziert. WAGNER (1988) hat mit seinen Untersuchungen die Wachstumsverzögerungen wissenschaftlich dokumentiert. Er hat festgestellt, dass die infizierten Ratten durchschnittlich 12% leichter sind als die gleichaltrigen nicht-infizierten Ratten.

In ihren über zwei Jahre andauernden Arbeiten haben LÜBCKE et al. (1992) festgestellt, dass *S. muris* bei den Ratten keine klinischen Symptome und keine licht- und elektronenmikroskopisch feststellbaren, histologischen Veränderungen in Caecum und Colon verursacht. Es wurde aber nachgewiesen, dass die *S. muris*-Infektion den Wasser- und Elektrolytentransport im Darm signifikant reduziert.

Für die Labortierhaltung relevante Untersuchungen haben MOHN und PHILIPP (1981) durchgeführt. Sie haben nachgewiesen, dass eine *S. muris*-Infektion bei Mäusen die Entwicklung des mikrosomalen monooxygenasen Systems in der Leber um 20-40% beschleunigt.

Es ist nicht auszuschliessen, dass *S. muris* bei den Ratten auch bakterielle und/oder virale Krankheiten überträgt. CHOWANIEC et al. (1972) haben belegt, dass die Parasiten, wie *Nematospiroides dubius*, die Wirtsimmunantwort bei den viralen Krankheiten, wie Influenza A reduzieren. Es wird sogar vermutet, dass das Tumorstadium durch Parasiten entweder gefördert oder unterdrückt wird (LÜBCKE et al., 1992).

All diese möglichen Folgen einer *S. muris*-Infektion belegen, dass die infizierten Ratten für Versuchszwecke untauglich sind und die erhobenen Resultate fraglich werden. Dies ist, neben der Rolle als Indikatorkeim, wiederum ein Grund für die Behandlung und Eradikation von *S. muris* in der Versuchstierhaltung.

## 2.10 Diagnose

### 2.10.1 Probenanzahl gemäss FELASA-Empfehlungen

Die Federation of European Laboratory Animal Science Association (FELASA) ist eine Dachorganisation von europäischen, versuchstierkundlichen Gesellschaften. Die FELASA wurde im Jahre 1978 gegründet und organisiert regelmässig wissenschaftliche Tagungen und veröffentlicht Empfehlungen auf dem Gebiet der Versuchstierkunde.

Gemäss FELASA-Empfehlungen sollten im Abstand von drei Monaten aus jeder hygienischen Einheit einer Barriere- und konventionellen Haltung von Labortieren mit mehr als 100 Tieren 10 gesunde Tiere einer Sektion und mikrobiologischen Routineuntersuchung unterzogen werden.

Die notwendige Stichprobengrösse ist von der Grösse des Bestandes, der Prävalenz und dem Untersuchungsintervall abhängig. Um eine Infektion mit einer Prävalenz von 50% oder mehr zu diagnostizieren, benötigt man eine geringere Probenanzahl als für eine Infektion mit niedrigerer Prävalenz.

Wenn die Voraussetzungen wie folgt erfüllt sind:

- Beide Geschlechter einer Population sind gleichermassen befallen
- Populationsgrösse ist mehr als 100 Tiere
- randomisierte Probenahme
- randomisierte Verteilung der Infektion

wird die Stichprobengrösse mit folgender Formel berechnet:

$$\text{Probengrösse} = \log 0.05 / \log N$$

N: Anteil der nicht-infizierten Tiere

0.05: Sicherheitsniveau

Verhältnis der Probengrösse zu Prävalenz

Vermutete Prävalenz (%)	Probengrösse mit verschiedenen Sicherheitsniveaus		
	95%	99%	99.9%
10	29	44	66
20	14	21	31
30	10	13	20
40	6	10	14
50	5	7	10

Beispiel: 10 Tiere sollten untersucht werden, um eine Infektion mit einer Prävalenz von 30% mit 95%iger Sicherheit zu diagnostizieren.

### 2.10.2 Tageszeit der Probenahme

Van der GULDEN (1967) hat festgestellt, dass die *S. muris*-Weibchen über Mittag vom Caecum nach distal wandern, um die Eier auf der Perianalhaut abzulegen. Er hat frühmorgens viele Würmer im Enddarm der infizierten Ratten identifiziert, nachmittags jedoch keine. In seiner Arbeit wurde beobachtet, dass *S. muris*, wie *E. vermicularis*, bei der Ei-Ausscheidung einen Tagesrhythmus aufweist. Van der GULDEN hat im Perianalbereich am Nachmittag mehr Eier gefunden als während des Restes des Tages.

Als nachtaktive Tiere sind die Ratten tagsüber eher entspannt und verbringen den Tag mit Schlafen. Sie putzen sich auch weniger als sonst. Erst kurz vor dem Lichtwechsel am Abend werden Ratten wieder aktiv und bleiben es bis kurz nach dem Lichtwechsel frühmorgens (GÄRTNER, 1991). Kurzfristige Aktivitätssteigerungen, wie Fütterung, Untersuchungen, Versuche usw. verursachen vermehrte Selbsthygiene (GÄRTNER, 1991) und infolgedessen nimmt die Anzahl Eier im Perianalbereich ab.

### 2.10.3 Diagnoseverfahren

Um *S. muris*-Infektionen bei den Ratten zu diagnostizieren, stehen verschiedene Diagnoseverfahren zur Verfügung:

- Die Klebestreifenmethode (GOETERS, 1952)
- Flotation in Lösungen von  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{ZnCl}_2$ ,  $\text{ZnCl}_2/\text{NaCl}$  ( $D=1.30$ ) (ECKERT, 1992)
- Flotation in Lösungen von  $\text{NaCl}$  ( $D=1.20$ ),  $\text{NaNO}_3$  ( $D=1.20$ ) (ECKERT, 1992)
- Das kombinierte Sedimentations-Flotationsverfahren (ECKERT, 1992)
- Histopathologische Untersuchungen (LÜBCKE et al., 1992)
- Nekroskopie (SASA et al., 1962)
- Serologie (SATO et al., 1995)

Im Kapitel 5.1 *Untersuchungsmethoden* werden die Diagnoseverfahren im Detail besprochen.

## **2.11 Therapie**

### **2.11.1 Therapieversuche bis in die sechziger Jahre**

Erste Therapieversuche bezüglich Parasiten der Familie Oxyuridae wurden mit *E. vermicularis* durchgeführt. Bis in die sechziger Jahre wurden besonders für die Behandlung der Enterbiose beim Menschen viele verschiedene Wirkstoffe, wie Gentian Violet, Crystal Violet, Sodium Fluorid, Hexylresorcinol, Carbon Tetrachlorid, Tetrachlorethylen, Egressin und Phenothiazin angewendet. Auch verschiedene Antibiotika wie Terramycin, Aureomycin, Bacitracin, Puromycin wurden zur Enterobiosisebekämpfung eingesetzt (TAFFS, 1976).

Die Syphacia-Bekämpfung wurde schon in den fünfziger Jahren mit Piperazin-Derivaten angegangen. Durch Piperazin werden adulte *S. muris* im Gastrointestinaltrakt gelähmt, jedoch nicht getötet (Tierarzneimittel Kompendium der Schweiz 2006/2007, 7. Ausgabe). Obwohl der Wirkstoff „Piperazin“ keine Wirkung auf Larven und Eier hat, wurde er früher sehr oft in der Labortierhaltung eingesetzt und empfohlen, als die Wirkstoffe Fenbendazol und Ivermectin noch unbekannt waren (TAFFS, 1976).

### **2.11.2 Therapieversuche bis in die achtziger Jahre**

Mit der Entwicklung neuer Wirkstoffe, haben sich neue Behandlungsmöglichkeiten ergeben. Diese Wirkstoffe wurden mittels unterschiedlicher Therapiepläne zur Syphacia-Bekämpfung empfohlen. Nachfolgend einige Beispiele (erwähnt in TAFFS, 1976):

- Piperazin Citrat oder Hexahydrat in einer Dosis von 3 g/l mit dem Trinkwasser während 14 Tagen mit wöchentlicher Erneuerung (HOAG, 1961)
- Piperazin Adipat 100 mg/25 ml Melasse mit dem Trinkwasser während 2-3 Tagen periodisch einmal monatlich (HABERMANN und WILLIAMS, 1963)
- Stilbazium Iodid 0.1 mg/kg über das Futter während 2 Tagen (HUNT und BURROWS, 1963)
- Trichlorfon 1.75 g/l im Trinkwasser mit 1 g Saccharos für eine bessere geschmackliche Akzeptanz während 14 Tagen (SIOMS, WILLIAMS und WRIGHT, 1965)
- Pyrvinium Pamoat 0.8 mg/l im Trinkwasser oder 1.6 mg/kg über das Futter während 30 Tagen (BLAIR, THOMPSON und VANDENBELT, 1968)
- Dichlorvos 0.5 mg/g Futter über das Futter für einen Tag (WAGNER, 1970)
- Haloxon 300 mg/kg oral (OWEN, 1972)
- Thiabendazol 100-400 mg/kg oral (BARTH, 1974)
- Thiabendazol 0.3% im Futter während 7-14 Tagen (TAFFS, 1975)

### 2.11.3 Therapiemöglichkeiten ab den achtziger Jahren

Ab den achtziger Jahren wurden nur noch Fenbendazol und Ivermectin für die Behandlung und Eradikation von *S. muris* in Labortierhaltungen angewendet.

#### 2.11.3.1 Fenbendazol

Fenbendazol ist ein Benzimidazol-Derivat. Durch eine zusätzliche Phenoxy-Gruppe ist seine antihelminthische Aktivität gegenüber herkömmlichen Benzimidazolen bedeutend erhöht. Der grundlegende Mechanismus der antihelminthischen Wirkung von Fenbendazol beruht auf der Hemmung der Polymerisation von Tubulin zu Mikrotubuli. Dadurch werden wichtige, strukturelle und funktionelle Zelleigenschaften, wie die Ausbildung des Cytoskeletts, die Spindelbildung bei der Mitose, sowie die Aufnahme und der intrazelluläre Transport von Nährstoffen und Stoffwechselprodukten verhindert. Die Glucoseaufnahme sowie die mitochondrialen Tätigkeiten, werden somit herabgesetzt, und es kommt schliesslich zu einer Erschöpfung der Energiereserven mit nachfolgendem Tod des Parasiten. Um diesen Effekt sicherzustellen, sind lange Kontaktzeiten des Antihelminthikums mit dem Parasiten von grossem Vorteil. Diese werden durch die geringe Löslichkeit und der damit verbundenen niedrigen Resorptionsrate gewährleistet.

Gemäss Herstellerinformationen besitzt Fenbendazol eine ovizide, larvizide und adultizide Wirkung. Die Wirkung tritt nach ca. 8 Stunden, infolge einer Störung der Spindelbildung und des Metabolismus während der Embryogenese ein. Fenbendazol hat jedoch keine ovizide Wirkung auf *S. muris*-Eier in der Umwelt. Der Wirkstoff ist auch hochwirksam gegen adulte und immature Magen-Darm-Nematoden, sowie auch gegen Lungenwürmer (Tierarzneimittelkompendium der Schweiz 2006/2007, 7. Ausgabe).

Nach der oralen Applikation, wird Fenbendazol nur teilweise resorbiert und in der Leber verstoffwechselt. Die höchsten Konzentrationen im Rattenblut werden 5 bis 7 Stunden nach der oralen Applikation erreicht. Die Eliminationshalbwertszeit beträgt 6 Stunden (DÜWEL, 1977). Als Hauptmetaboliten werden Sulfoxid (Oxfendazol; FBZ-SO), p-Hydroxyfenbendazol (FBZ-OH), Fenbendazol Amin (FBZ-NH<sub>2</sub>) und Fenbendazol Sulfon (FBZ-SO<sub>2</sub>) gebildet (SHORT et al., 1988).

Nach der oralen Applikation werden 44-50% der verabreichten Dosis unverändert ausgeschieden. Die Ausscheidung erfolgt zu mehr als 90% über den Kot und zu weniger als 7% über den Urin, in geringem Anteil auch über die Milch. Bei den Ratten sind drei Tage nach der oralen Applikation 99% der verabreichten Dosis wieder ausgeschieden (WHO Food Additives, Series 29).

Die empfohlene, therapeutische, orale Dosis bei den Ratten liegt bei 5-7.5 mg/kg KGW. Die Applikationsdauer ist von der Fragestellung abhängig. Um in einer Labortierhaltung eine *S. muris*-Infektion zu behandeln, empfiehlt die GV-SOLAS, zusammen mit begleitenden hygienischen Massnahmen, die Applikation der

Medizinalfuttermischung während mindestens 6, im Idealfall während 10 bis 12 Monaten.

Die orale LD 50 ist grösser als 10'000 mg/kg. In subakuten und chronischen, oral durchgeführten toxikologischen Studien, haben Ratten 30x2500 mg/kg und 90x1600 mg/kg gut vertragen (DÜWEL, 1977).

In den späten siebziger Jahren wurden zum ersten Mal wissenschaftliche Arbeiten über den Einsatz von Fenbendazol in der Labortierhaltung veröffentlicht und im Jahre 1976 kam der Wirkstoff bei der Behandlung von grossen Versuchstierhaltungen zur Anwendung. Damals wurde Fenbendazol durch STRASSER und TIEFENBACH (1983) zuerst in einer Dosis von 8 mg/kg während 5 Tagen verabreicht, später während 6 Wochen 100ppm und in den folgenden 4.5 Monaten 50ppm ins Futter gemischt und verfüttert.

Nach diesen ersten ermutigenden Meldungen über die Anwendung von Fenbendazol in der Labortierhaltung, kam Fenbendazol in Fachkreisen häufiger zum Einsatz. Es wurden mehrere wissenschaftliche Arbeiten über *S. muris*-Eradikationserfolge, unter Langzeitanwendung von Fenbendazol, veröffentlicht (NICKLAS et al., 1984, COGHLAN et al., 1993, HUERKAMP et al., 2000 und 2004, BARLOW et al., 2005, KEEN et al., 2005).

BARON et al., 2000 und KEEN et al., 2005 haben unabhängig voneinander berichtet, dass die Behandlung von Ratten mit einer Dosis von 8-12 mg/kg während der Trächtigkeit und Laktation zu keinen Verhaltensveränderungen bei den Nachkommen führt.

MOHN und PHILLIP (1981) haben berichtet, dass die Dauermedikation mit Fenbendazol das hepatische Monooxygenase-System nicht beeinflusst, während dessen Entwicklung bei *S. muris*-Befall um 20-40% beschleunigt wird.

Nach bisherigen Erfahrungen lässt der Wirkstoff Fenbendazol in der angegebenen oralen Dosis keine toxischen oder teratogenen Nebenwirkungen erwarten. Sowohl akute, als auch subchronische 30- und 90-Tage-Verträglichkeitsversuche mit Fenbendazol an Ratten haben ergeben, dass keine klinischen, hämatologischen, klinisch-chemischen und histologischen Befunde erhoben werden konnten (DÜWEL, 1976, STRASSER und TIEFENBACH, 1983).

SHODA et al. (1999) haben berichtet, dass die orale Applikation von Fenbendazol in einer Dosis von 600ppm und höher, die Lebertumorbildung fördern könnte. 600ppm ist 4mal höher als die empfohlene, therapeutische Dosis.

### 2.11.3.2 Ivermectin

Ivermectin ist ein makrozyklisches Lakton und gehört zur Gruppe der Avermectine. Avermectine werden aus den Fermentationsprodukten des Aktinomyceten *Streptomyces avermitilis* gewonnen. Der Wirkstoff Ivermectin ist eine Mischung von halb-synthetischen 22,23 Derivaten von Ivermectin B1a ( $C_{48}H_{74}O_{14}$ ) und Ivermectin B1b ( $C_{47}H_{72}O_{14}$ ). Ivermectin ist eine lipophile Lösung (CAMPBELL et al., 1983).

Ivermectin findet bei Tieren und Menschen als Antiparasitikum Anwendung. Ivermectin beeinflusst die GABA-Rezeptoren und wirkt durch die Hemmung der Impulsübertragung zwischen Nervenzellen oder Nerven- und Muskelzellen gegen Nematoden und Arthropoden, jedoch nicht gegen Cestoden. Dies führt zur Lähmung und Abtötung der Parasiten. Da bei Cestoden die GABA-Rezeptoren fehlen, hat Ivermectin hier keine Bindungsstellen und somit keine Wirkung (HASSLINGER und WIETHE 1987).

Obwohl die Rezeptoren des inhibitorischen Neurotransmitters GABA im ZNS der Säugetiere vorhanden sind, hat der Wirkstoff Ivermectin bei ihnen keine Wirkung. Ursächlich hierfür ist die geringe Affinität der GABA-Rezeptoren im ZNS der Säugetiere für Ivermectin und die Tatsache, dass eine intakte Blut-Hirn-Schranke bei empfohlener Dosis eine Anreicherung von Ivermectin im ZNS verhindert. Ivermectin hat keine Wirkung auf inhibitorische, periphere Neurotransmitter, wie z.B. Acetylcholin (MSD, 1988).

Ivermectin kann per os, als Spot on, intramuskulär oder subkutan angewendet werden. Die empfohlene, therapeutische, orale Dosis im Trinkwasser, beträgt bei Ratten 2 mg/kg KGW bei angenommener Trinkwasseraufnahme von 7 ml/100 g KGW pro Tag. Die Behandlung muss einmal pro Woche während 3 Wochen durchgeführt und nach je 8 Wochen wiederholt werden (BOOT et al., 1999). Der tägliche Wasserkonsum der Ratte liegt etwa bei 10 ml/100 g KGW pro Tag (WOHLFENSOHN, 1998).

Ivermectin kann auch als Spraylösung gegen *Syphacia* sp. angewendet werden. In diesem Fall muss ein Teil Ivermectin mit 10 Teilen Wasser gemischt werden und die Tiere im frischen Käfig einmal wöchentlich, während 3 Wochen besprüht werden. Bei dieser Behandlung ist zu berücksichtigen, dass der Wirkstoff Ivermectin nicht in Wasser löslich ist. Eine genaue Dosierung ist bei diesem Management kaum möglich (BOOT et al., 1999).

Die Spot on-Anwendung von Ivermectin ist ebenso möglich. Bei dieser Therapieform wird 1 Tropfen 1% Ivermectin zwischen die Schulterblätter appliziert und diese Behandlung im Abstand von 10 Tagen einmalig wiederholt.

Die empfohlene intramuskuläre und subkutane Dosis von Ivermectin ist 0.2-0.4 mg/kg KGW. Diese Dosis sollte im Abstand von 10-14 Tagen erneut verabreicht werden (Tierarzneimittelkompendium der Schweiz 2006/2007, 7. Ausgabe).

Die höchsten Gewebekonzentrationen nach oraler Applikation findet man bei den meisten Tierarten in der Leber und im Fettgewebe. Nach der Applikation von Ivermectin

ist nur eine extrem niedrige Konzentration im Gehirn nachweisbar (WHO Food Additives, Serie 27).

Die Halbwertszeit beträgt bei Ratten ca. 1 Tag. Über 90% des applizierten Ivermectin wird unverändert über den Kot ausgeschieden. Je 2% werden über den Urin und über die Milch ausgeschieden (CAMPBELL et al., 1983).

Die LD 50 bei akuten, toxikologischen Studien, beträgt bei neugeborenen Ratten 2.3 mg/kg, bei jungen adulten Weibchen 44.3 mg/kg und bei jungen adulten Männchen 42.8 mg/kg (MSD, 1988). Da bei neugeborenen Ratten die Blut-Hirn Schranke erst 10 Tage post partum vollständig entwickelt ist, ist die LD 50 bei diesen Tieren niedriger als bei den jungen oder adulten Ratten. Bei anderen Tierarten, sowie auch beim Menschen, entwickelt sich die Blut-Hirn Schranke schon intrauterin (LANKAS et al., 1989, POUL, 1988).

Die Behandlung von trächtigen und säugenden Ratten mit Ivermectin hat negative Auswirkungen auf die Überlebensrate, das Wachstum und die Reflexentwicklung der Neugeborenen, wenn die Dosis bei den Muttertieren 1 mg/kg KGW überschreitet. Die Gründe hierfür sind einerseits die nicht voll entwickelte Blut-Hirn-Schranke bei den neugeborenen Ratten und andererseits die Anreicherung von Ivermectin in der Muttermilch. Es wurde nachgewiesen, dass die Ivermectinkonzentration in der Muttermilch 3-4fach höher ist, als diejenige im Plasma (LANKAS et al., 1988).

Die teratogene Wirkung von Ivermectin kann bei Ratten, Kaninchen und Mäusen zur Bildung von Gaumenspalten führen. Die teratogene Wirkung tritt bei den Mäusen schon bei einer Dosis von 0.2 mg/kg/Tag ein, was der therapeutischen Dosis entspricht. Die Maus ist die empfindlichste Tierart für die teratogene Wirkung (MSD, 1988).

Die Behandlung von Labormäusen mit Ivermectin, wurde erstmals im Jahre 1985 von OSTLIND et al. mit einer Dosis von 0.5-2 mg/kg als Gavage, oder einer Dosis von 0.0005% ins Futter gemischt, beschrieben. Bei Ratten wurde Ivermectin im Jahre 1987 durch BATTLES et al. in einer Dosis von 200 µg/kg/Tag während 5 Tagen im Futter angewendet. Später wurde Ivermectin mit unterschiedlichen Behandlungsmanagements von verschiedenen Autoren eingesetzt, jedoch jeweils nur mit kurzfristigem Erfolg (PRITCHETT und JOHNSTON, 2002).



## **3 MATERIAL UND METHODEN**

### **3.1 Material**

#### **3.1.1 Versuchstiere**

Ein Teil dieser Arbeit (Versuch 1) wurde mit natürlich infizierten Ratten bei der F. Hoffmann-La Roche Ltd, Basel, durchgeführt. Die *S. muris*-Infektion wurde durch Nekroskopie der Sentinel-Tiere und durch eine parasitologische Untersuchung mittels der Klebestreifenmethode bei den Versuchstieren bestätigt.

Für den zweiten Teil der Arbeit (Versuch 2) wurden am Institut für Labortierkunde gezüchtete Wistar-Ratten eingesetzt.

#### **3.1.2 *Syphacia muris* als Antigen**

*S. muris* wurde aus natürlich infizierten Ratten nach der Sektion aus dem Caecum und dorsalen Colon entnommen. Unmittelbar nach der Euthanasie wurden Darmabschnitte mit dem gesamten Inhalt in eine Petrischale gelegt und 15 Minuten bei 10 °C gelagert. Nach dieser Wartezeit wurden 20 ml einer 38°C warmen 0.9%iger NaCl-Lösung zugefügt und eine Stunde im Brutschrank bei 38°C aufbewahrt. Ausgewanderte *S. muris* wurden unter direkter Sichtkontrolle in einem 20 ml-Proberöhrchen, mit 5 ml 0.9%iger NaCl-Lösung, gesammelt. Nach vier aufeinanderfolgenden Waschungen wurden die Parasiten im Kühlschrank bis zur weiteren Verarbeitung bei maximalen 5°C aufbewahrt.

Die Antigenaufarbeitung erfolgte durch viermaliges Gefrieren (Flüssigstickstoff) und Auftauen, sowie mittels Ultraschall-Behandlung (Branson sonifier 250, duty cycle 40, 28 Watt). Die lösliche Antigene wurden nach Zentrifugation (30 min, 14000 x g, 4°C) im Überstand gewonnen.

## **3.2 Herkunft und Haltungsbedingungen der Versuchstiere**

### **3.2.1 F. Hoffmann-La Roche Ltd, Basel**

Die in den Versuchen eingesetzten Ratten-Stämme Crl:CD(SD), Crl:WI, CrlGlxBrlHan:WI, F-344/Crl, FATTY Ico ZUCKER-fa/fa, HanBrl:WIST, HanRCC:WIST, HsdOla:LH, SHR/NCrllco, Ico:OFA-SD (IOPS Caw), Lew/Crl Ico, Sprague Dawley und RjHan:SD, stammen von kommerziellen Züchtern, wie CHARLES RIVER (D, F), HARLAN (NL), IFFA CREDO, ELEVAGE JANVIER und RCC Ltd. (CH) aus Zuchten mit SPF-Status. Alle Ratten werden in sechs voneinander getrennten Gebäuden gehalten. In jedem Gebäude existieren weitere räumlich getrennte Tierhaltungsräume.

Für den Versuch wurden die Rattenstämme HsdOla:LH von HARLAN (NL) und SHR/NCrllco von CHARLES RIVER (F) eingesetzt. Die Proben für die parasitologischen Untersuchungen mittels der Klebestreifenmethode wurden in den Tierhaltungsräumen entnommen.

Die Ratten werden unter definierten Bedingungen gehalten. Die Raumtemperatur beträgt 20°C, die Luftfeuchtigkeit liegt bei 55% (+/-5%). Der Lichtzyklus ist auf einen 12/12 Stunden Hell-Dunkelrhythmus eingestellt. Die Lichtintensität beträgt im Minimum 0 und im Maximum 250 Lux. Die Luft wird gefiltert und in den Tierhaltungsräumen findet ca. 12-mal pro Stunde ein Luftwechsel statt.

Die Haltung erfolgt in Typ-4 Makrolon-Käfigen ohne Filterdeckel in Gruppen von jeweils 4 Tieren oder in Typ-3 Makrolon-Käfigen ohne Filterdeckel, falls die Ratten einzeln gehalten werden müssen. Je nach Belegung werden die Käfige zwei- bis dreimal wöchentlich gewechselt und gesammelt. Die Einstreu wird in der Waschküche mittels einer Absauganlage entfernt. Als Käfigeinstreu kommt Lignocel® (Hygienisch Animal Bedding von J. Rettenmaier & Söhne GmbH + Co. KG, Holzmühle 1, D-73494 Rosenberg) zur Anwendung. Nach jedem Käfigwechsel werden die benutzten Käfige autoklaviert.

Wasser wird über Trinkflaschen ad libitum angeboten. Die Trinkflaschen werden autoklaviert und automatisch befüllt.

Dem grössten Teil der Ratten wird das pelletierte Futter, Extrudat 3436, von Provimi Kliba AG in CH-4303 Kaiseraugst ad libitum gefüttert. Während toxikologischer Versuche dürfen die Ratten ausschliesslich das GLP-Futter von Provimi Kliba AG ad libitum fressen.

### **3.2.2 Institut für Labortierkunde der Universität Zürich**

Die Wistar-Ratten am Institut für Labortierkunde der Universität Zürich wurden im Institut selber gezüchtet und unter definierten Bedingungen in Gruppen von 4-5 Tieren, gehalten. Die Raumtemperatur beträgt 20°C, die Luftfeuchtigkeit liegt bei 55% (+/-5%). Der Lichtzyklus ist auf einen 12/12 Stunden Hell-Dunkelrhythmus eingestellt. Die Haltung erfolgt in Typ-1400 IVC Makrolon-Käfigen ohne Filterdeckel mit einem 50fachen Luftwechsel/Stunde. Als Käfigeinstreu kommt Tapvei Espen-Holzspäne (Tapvei-Oy, Kortteinen, 73620 Finnland) zum Einsatz. Das Futter (Nafag Ecosan, Provimi Kliba AG, Bahnhofplatz 9, CH-9200 Gossau; DVOD 100mm Mäuse-Ratten-Zuchtfutter) wurde über eine Dampfsterilisation in Tyndall-Verfahren bei 3 bar, 110°C über 30 min autoklaviert. Das Trinkwasser ist mit 4ppm Chlor behandelt. Der Käfigwechsel der Tiere erfolgt wöchentlich in einer Sterilbank.

### 3.3 Methoden

#### 3.3.1 Klebestreifenmethode

Die Klebestreifenmethode ist das empfohlene Diagnoseverfahren, um *S. muris*-Infektionen zuverlässig zu diagnostizieren (van der GULDEN, 1967, TAFFS, 1976, PRITCHETT und JOHNSTON, 2002). Das Verfahren ist übrigens auch bei Affen, Pferden, sowie beim Menschen für den Nachweis von Oxyuren anwendbar. Hierzu nimmt man ein Stück einseitigen transparenten Tesaband-Klebestreifen (3M France, Boulevard de l'Oise F.95006 Cergy-Pontoise CEDEX, Art. Nr. 371295027) von 4 cm Länge und 1 cm Breite, fasst die Ratte am Schwanz und drückt die Klebeschicht kurz auf den After des Tieres (Anahaut muss trocken sein). Anschliessend klebt man das Stück Klebestreifen auf einen Objektträger. Zur Identifikation wird die Probe mit der Tier-Identifikationsnummer, dem Datum und der Probenahmezeit versehen.

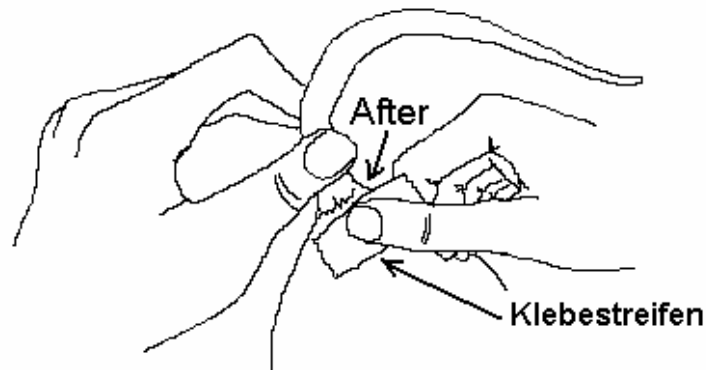


Abbildung 3.1: Probenahmetechnik

Nach den Probenahmen mittels der Klebestreifenmethode (oben abgebildet), werden die Objektträger unter das Mikroskop gelegt (25fache Vergrößerung) und die Klebestreifenstücke auf Eier und evtl. auch auf Würmer untersucht.



Abbildung 3.2: *S. muris*-Eier unter dem Mikroskop (25fache Vergrößerung)

### 3.3.2 Versuch 1

Im Versuch 1 wurden durch die Untersuchungen folgende Fragestellungen abgeklärt:

- a) Wo auf der Körperoberfläche der infizierten Ratten können mittels der Klebestreifenmethode *S. muris*-Eier am zuverlässigsten diagnostiziert werden?
- b) Gibt es einen tageszeitlichen Ei-Ausscheidungsrythmus bei *S. muris*-Infektionen und bestehen Unterschiede zwischen Einzel- und Gruppenhaltung?
- c) Ist eine Eradikation der *S. muris*-Infektion in einem Institut mit laufenden Versuchen durch den Einsatz von antiparasitären Wirkstoffen ohne Desinfektion und Depopulation möglich?

Zuerst wurde untersucht, an welchen Stellen des Rattenkörpers die *S. muris*-Eier mit der Klebestreifenmethode am zuverlässigsten diagnostiziert werden können. Die Untersuchungen wurden mit 10 infizierten männlichen, in Einzelkäfigen gehaltenen, SHR/NCrllco Ratten von Charles River Frankreich durchgeführt. Um sicherzustellen, dass jede Ratte auf eine standardisierte Art und Weise untersucht wird, wurde die Rattenkörperoberfläche in 28 Regionen unterteilt (siehe Abbildungen 3.3 und 3.4). Von jedem Bereich wurde eine Probe mittels Klebestreifen entnommen und unter dem Mikroskop untersucht. Die Resultate dieser Untersuchung sind in Abbildung 4.1 graphisch und in Tabelle 6.1 im Anhang detailliert dargestellt.

Anschliessend wurde die unmittelbare Umgebung der *S. muris*-infizierten Ratten auf *S. muris*-Eier untersucht. Zu diesem Zweck wurden:

1. Zehn Käfige mit normaler Einstreu von männlichen, *S. muris*-infizierten SHR/NCrllco Ratten auf *S. muris*-Eier untersucht. Pro Käfig wurden 4 Proben vom Käfigboden, 4 Proben von den Käfigwänden und 2 Proben vom Deckel entnommen. Die Resultate dieser Untersuchung sind in der Tabelle 4.1 dargestellt.
2. Dieselben Ratten während 4 Stunden in Typ-3 Makrolon-Käfigen ohne Einstreu gehalten und die Käfige analog zu den Käfigen mit Einstreu mittels der Klebestreifenmethode auf *S. muris*-Eier untersucht. Die Resultate dieser Untersuchung sind in Tabelle 4.2 zusammengefasst.
3. Laborutensilien, MRI, Lüftung, Tiertransportwagen und anderweitige Gegenstände, die mit den Tieren in Kontakt kommen können, mittels der Klebestreifenmethode untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen werden im Kapitel 4.1.1 beschrieben.

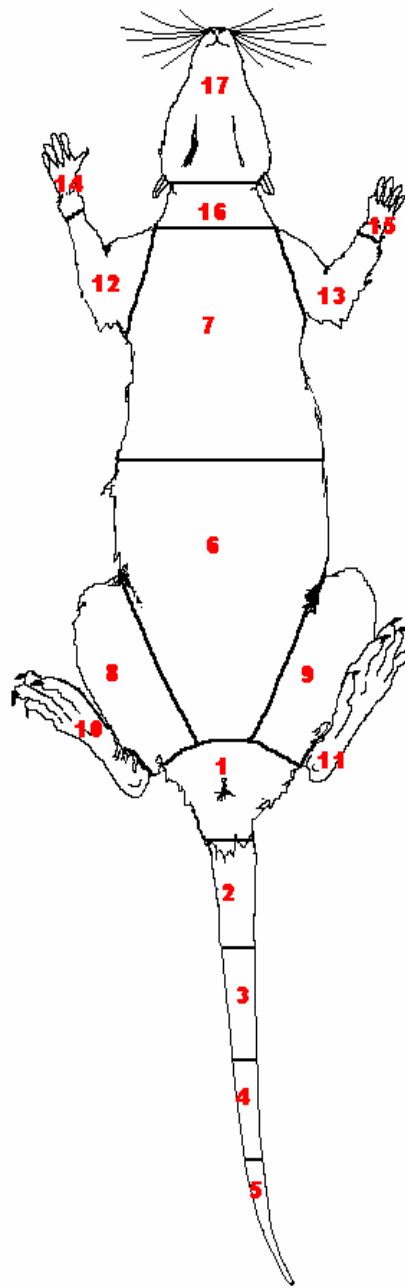


Abbildung 3.3: Unterteilung der Körperoberfläche, ventrale Seite

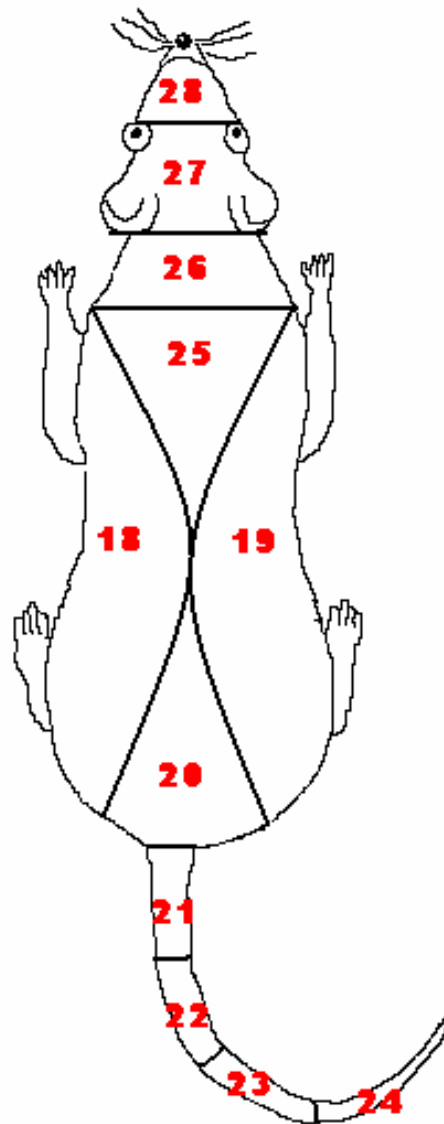


Abbildung 3.4: Unterteilung der Körperoberfläche, dorsale Seite

Um die optimalen tageszeitlichen Probeentnahmezeiten zu eruieren, wurden bei 2 verschiedenen Rattenstämmen, SHR/NCrlco in Einzelhaltung und HsdOla:LH in Gruppenhaltung, jeweils 10 *S. muris*-positive und 10 *S. muris*-negative Ratten untersucht. Die Resultate dieser Untersuchungen sind in Abbildungen 4.2 und 4.3 graphisch und im Anhang in Tabelle 6.2 und 6.3 detailliert dargestellt.

Um eine mögliche Kreuzkontamination bei den Proben auszuschliessen, wurden jeweils 10 negative SHR/NCrlco und HsdOla:LH Ratten unter zwei verschiedenen Haltungsbedingungen (Einzel- und Gruppenhaltung), in stündlichen Abständen, mittels derselben Methode, auf *S. muris*-Eier untersucht. Die genauen Resultate sind in Tabelle 6.4 und in Tabelle 6.5 im Anhang dokumentiert.

Anschliessend wurde die *S. muris*-Infektion durch die Behandlung ausgeremert und der Behandlungserfolg durch regelmässige Untersuchungen kontrolliert.

### 3.3.3 Behandlung der Versuchstierkolonie

BOOT et al. (1999) empfehlen die Kombination von Fenbendazol und Ivermectin. Die Behandlung wurde in zwei Phasen durchgeführt. In der ersten Phase vom 10. April 2006 bis 08. Mai 2006 erhielten die Ratten abwechselnd Fenbendazol (Panacur® Pulver 4% ad us. vet., Medizinalkonzentrat, Veterinaria AG, Grubenstrasse 40 CH-8045 Zürich) und Ivermectin (Ivomec Prämix® 0.6% ad us. vet., Medizinalkonzentrat, Biokema SA, CH.de la Chatanerie 2, CH-1023 Crissier) über das Medizinalfutter, hergestellt in der Provimi Kliba AG, Kaiseraugst, BL. Vom 08. Mai 2006 bis zum 20. September 2006 wurde nur Medizinalfutter mit Fenbendazol gefüttert.

Das Behandlungsschema im Detail:

- 10. April 2006 bis 18. April 2006: Fenbendazol 7.5 mg/kg KGW
- 18. April 2006 bis 24. April 2006: Ivermectin 0.45 mg/kg KGW
- 24. April 2006 bis 02. Mai 2006: Fenbendazol 7.5 mg/kg KGW
- 02. Mai 2006 bis 08. Mai 2006: Ivermectin 0.45 mg/kg KGW
- 08. Mai 2006 bis 20. September 2006: Fenbendazol 7.5 mg/kg KGW

Der zeitliche Verlauf des Eradikationsprogramms im Jahr 2006 ist in Tabelle 3.1 dargestellt:

Jan 06	Feb 06	März 06	Apr 06	Mai 06	Juni 06	Juli 06	Aug 06	Sep 06	Okt 06	Nov 06	Dez 06
Diagnose der Infektion	Vorbereitungen: Medizinalfutter, Sensibilisierung der MitarbeiterInnen	Eradikationsprogramm							Kontrolle		
		Kontrolle									

**Tabelle 3.1: Zeitlicher Verlauf des Eradikationsprogramms**



### 3.3.4 Versuch 2

Für den Versuch 2 wurden am Institut für Labortierkunde gezüchtete Wistar-Ratten durch die 21-tägige gemeinsame Haltung in einem Käfig mit natürlich infizierten Ratten infiziert. Danach wurden die ursprünglich infizierten Ratten euthanasiert. Die erste zusätzlich infizierte Ratte in der Versuchstierkolonie wurde schon 8 Tage nach Vergesellschaftung mit den infizierten Ratten identifiziert; 30 Tage danach waren 3 von 9 weiblichen und 13 von 17 männlichen Ratten, 63 Tage danach 4 von 9 weiblichen und 15 von 17 männlichen Ratten mit *S. muris* infiziert. Mit diesen experimentell infizierten Tieren wurde der Versuch 2 durchgeführt und folgende Fragestellungen abgeklärt:

- a) Gibt es einen tageszeitlichen Ei-Ausscheidungsrythmus bei *S. muris*-Infektion und bestehen Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Ratten?
- b) Entwickeln *S. muris* infizierte Ratten Antikörper gegen *S. muris* und können diese mittels ELISA nachgewiesen werden?

Zu diesem Zweck wurde am Institut für Labortierkunde der Universität Zürich der Perianalbereich aller in Versuch 2 eingesetzten Ratten, inkl. Kontrolltiere, über einen Tag hinweg, im Abstand von zwei Stunden, mittels der Klebestreifenmethode auf *S. muris*-Eier untersucht. Um die *S. muris*-Eizahl so gut wie möglich zu reduzieren, wurde nach einer ersten Probenahme der Perianalbereich der Ratte mit einem feuchten Papiertuch gereinigt und getrocknet. Unmittelbar danach wurde von der gleichen Ratte eine zweite Probe entnommen, um nachzuweisen, dass die Anzahl der *S. muris*-Eier reduziert wurde. Von 7 bis 18 Uhr wurden alle Ratten im Abstand von zwei Stunden auf die gleiche Art und Weise untersucht. Die Resultate dieser Untersuchungen sind in Abbildungen 4.4 und 4.5 graphisch und in Anhang in Tabelle 6.6 detailliert dargestellt.

Am Ende des Versuches wurden alle im Versuch 2 eingesetzten Ratten mittels CO<sub>2</sub> euthanasiert und unmittelbar danach direkt aus dem Herzen Blut entnommen, um die Antikörperbildung gegen *S. muris* mittels ELISA zu untersuchen. Die serologische Untersuchung wurde am Institut für Parasitologie der Universität Zürich durchgeführt. Die Resultate der Serologie sind in Abbildungen 4.6 und 4.7 graphisch zusammengefasst.

### 3.3.5 Serologie mittels ELISA

Die Untersuchungen der Seren aller in Versuch 2 eingesetzten Ratten erfolgte mittels ELISA am Institut für Parasitologie der Universität Zürich.

Jede Vertiefung der ELISA-Platte (Nunc-Immunoplate Maxisorb®) wurde mit 100 µl von *S. muris*-Antigen, 1:80 in Carbonat-Bicarbonat-Puffer (Puffer I<sup>1</sup>) verdünntem *S. muris*, beschichtet (Die optimale Antigenkonzentration wurde durch eine Titration ermittelt) und 24 Stunden bei 4°C inkubiert. Dann wurde die Platte entleert, die residuale Flüssigkeit entfernt und viermal mittels ELISA-Waschlösung<sup>2</sup> gewaschen.

Anschliessend wurde in jede Vertiefung der Platte 300 µl von PBS-Tween 20 (Puffer II<sup>3</sup>) zugefügt und 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Nach der Inkubation wurde wieder die ganze Platte entleert und die residuale Flüssigkeit entfernt.

Dann wurden 100 µl von 1:200 in Puffer II verdünnten Seren, in jede Vertiefung der Platte verabreicht und 2 Stunden bei 37°C inkubiert.

Nach viermaligem Waschen mittels ELISA-Waschlösung und Entfernen der residualen Flüssigkeit, wurde 100 µl von in Puffer II verdünnter Konjugat-Lösung (Ziege-Anti-Ratte IgG, gekoppelt an alkalische Phosphatase „SIGMA“, A-8438) in jeder Vertiefung der Platte zugefügt und 2 Stunden bei 37°C inkubiert.

Anschliessend wurde die ELISA-Platte wieder viermal mit ELISA-Waschlösung gewaschen und die residuale Flüssigkeit entfernt. Dann wurde in jeder Vertiefung der Platte 100 µl in Puffer III<sup>4</sup> gelöstem Substrat (4-Nitrophenyl Phosphat Disodiumsalt Hexahydrat, „Biochemika“) angesetzt und 20 Minuten bei 37°C inkubiert.

Zuletzt wurde die Platte mit Hilfe von einem Photometer bei 405 nm Wellenlänge abgelesen.

---

<sup>1</sup> Zusammensetzung in Tabelle 6.8 im Anhang beschrieben

<sup>2</sup> Zusammensetzung in Tabelle 6.9 im Anhang beschrieben

<sup>3</sup> Zusammensetzung in Tabelle 6.10 im Anhang beschrieben

<sup>4</sup> Zusammensetzung in Tabelle 6.11 im Anhang beschrieben

## 4 RESULTATE

### 4.1 Versuch 1

#### 4.1.1 Ort der Probenahme

Abbildung 4.1 zeigt schematisch den Bereich an dem die *S. muris*-Eier mittels Klebestreifenmethode nachweisbar sind. Es ist der Perianalbereich. Die detaillierten Resultate der Untersuchungen der Rattenkörperoberfläche auf *S. muris*-Eier werden in Tabelle 6.1 im Anhang präsentiert.

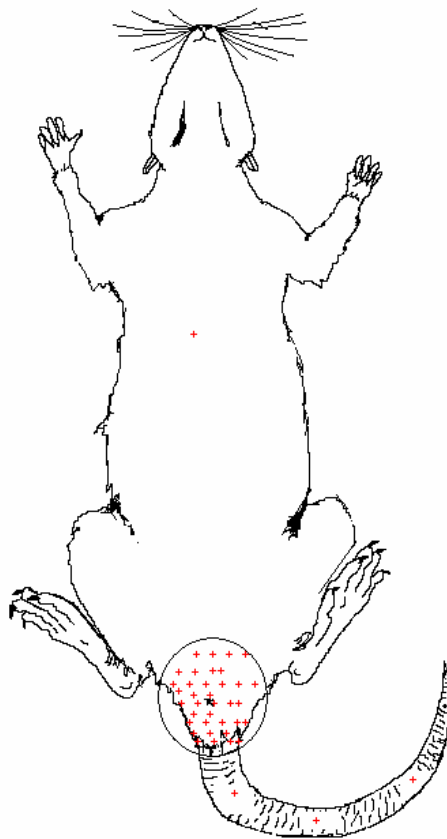


Abbildung 4.1: Ort der Probenahme

Nachfolgend werden die Resultate der Untersuchungen von Käfigen, in denen die *S. muris*-infizierte Ratten mit und ohne Einstreu gehalten wurden, dargestellt.

Käfige mit Einstreu	Boden		Wände		Deckel	
	Anzahl Proben	Resultate	Anzahl Proben	Resultate	Anzahl Proben	Resultate
Käfig 1	4	-	4	-	2	-
Käfig 2	4	-	4	-	2	-
Käfig 3	4	-	4	-	2	-
Käfig 4	4	-	4	-	2	-
Käfig 5	4	-	4	-	2	-
Käfig 6	4	-	4	-	2	-
Käfig 7	4	-	4	-	2	-
Käfig 8	4	-	4	-	2	-
Käfig 9	4	-	4	-	2	-
Käfig 10	4	-	4	-	2	-

**Tabelle 4.1: Die Resultate der Untersuchung zum Nachweis von *S. muris*-Eiern in Käfigen mit Einstreu**

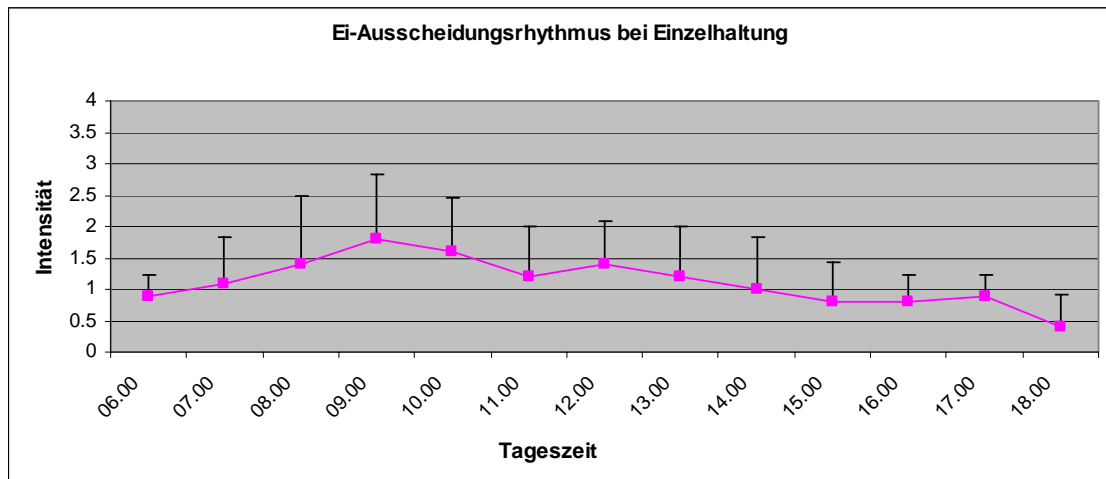
Käfige ohne Einstreu	Boden		Wände		Deckel	
	Anzahl Proben	Resultate	Anzahl Proben	Resultate	Anzahl Proben	Resultate
Käfig 1	4	-	4	-	2	-
Käfig 2	4	+	4	-	2	-
Käfig 3	4	-	4	-	2	-
Käfig 4	4	-	4	-	2	-
Käfig 5	4	+	4	-	2	-
Käfig 6	4	+	4	-	2	-
Käfig 7	4	-	4	-	2	-
Käfig 8	4	+	4	-	2	-
Käfig 9	4	-	4	-	2	-
Käfig 10	4	-	4	-	2	-

**Tabelle 4.2: Die Resultate der Untersuchung zum Nachweis von *S. muris*-Eiern in Käfigen ohne Einstreu**

Bei keiner der 215 Proben von Laborutensilien, MRI, Lüftung, Tiertransportwagen und anderwärtigen Gegenständen, konnten Eier von *S. muris* mittels Klebestreifenmethode diagnostiziert werden.

#### 4.1.2 Der tageszeitliche Ei-Ausscheidungsrythmus je nach Haltungsart

Die grafische Darstellung der Resultate der SHR/NCrllco Ratten in Einzelhaltung ist in Abbildung 4.2 aufgeführt. Die Ergebnisse dieser Gruppe sind im Detail in der Tabelle 6.2 im Anhang dargestellt.



**Abbildung 4.2: Der tageszeitliche Ei-Ausscheidungsrythmus bei Einzelhaltung**

X-Achse zeigt die Tageszeit

Y-Achse zeigt den Mittelwert der Ei-Ausscheidungsintensität bei 10 *S. muris*-positiven SHR/NCrllco Ratten in **Einzelhaltung**

n: 10

■ : Standardabweichung

Intensität: 0: keine *S. muris*-Eier in der Probe

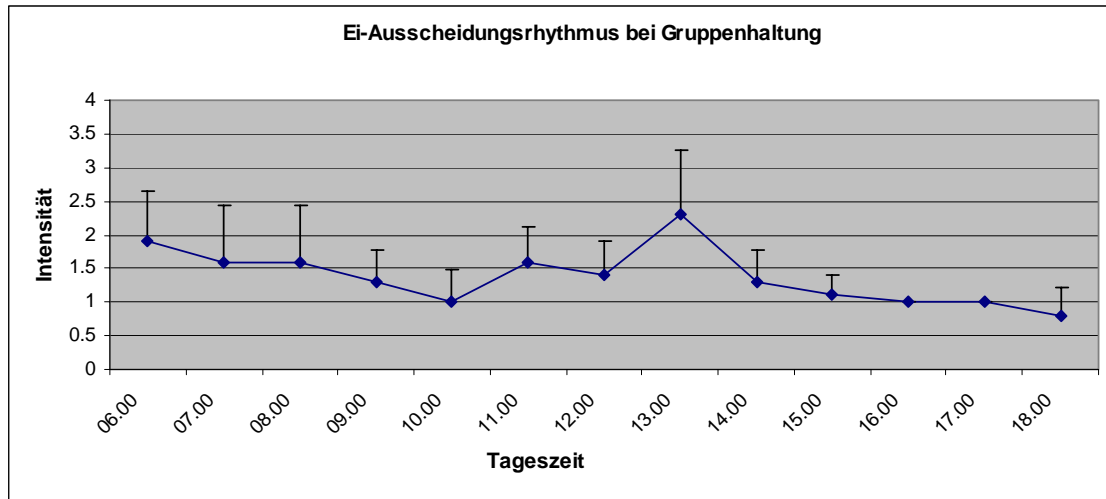
1: weniger als 10 *S. muris*-Eier in der Probe

2: mehr als 10 *S. muris*-Eier gut verteilt in der Probe

3: mehr als 10 *S. muris*-Eier in einem Gesichtsfeld der Probe

4: mehr als 10 *S. muris*-Eier in mehreren Gesichtsfeldern der Probe

Die grafische Darstellung der Resultate der HsdOla:LH Ratten in Gruppenhaltung ist in Abbildung 4.3 aufgeführt. Die Ergebnisse im Detail dieser Gruppe sind in der Tabelle 6.3 im Anhang dargestellt.



**Abbildung 4.3: Der tageszeitliche Ei-Ausscheidungsrythmus bei Gruppenhaltung**

X-Achse zeigt die Tageszeit

Y-Achse zeigt den Mittelwert der Ei-Ausscheidungsintensität bei 10 *S. muris*-positiven HsdOla:LH Ratten in **Gruppenhaltung**

n: 10

■ : Standardabweichung

Intensität: 0: keine *S. muris*-Eier in der Probe

1: weniger als 10 *S. muris*-Eier in der Probe

2: mehr als 10 *S. muris*-Eier gut verteilt in der Probe

3: mehr als 10 *S. muris*-Eier in einem Gesichtsfeld der Probe

4: mehr als 10 *S. muris*-Eier in mehreren Gesichtsfeldern der Probe

### 4.1.3 Behandlungserfolg

Gemäss den FELASA-Empfehlungen (siehe Kapitel 2.10.1) sollten 10 Tiere untersucht werden, um eine Infektion mit einer Prävalenz von 30% mit 95%iger Sicherheit zu diagnostizieren. Die im Rahmen dieser Arbeit in der F. Hoffmann-La Roche Ltd, Basel, seit Januar 2006 untersuchte Probenzahl entsprach der Anzahl der Käfige. Somit übertrifft die Probenanzahl die FELASA-Empfehlungen bei weitem. Die Proben wurden in den Haltungsräumen zwischen 09.00-15.00 Uhr vom Perianalbereich der Ratten entnommen und unter dem Mikroskop mit 25-facher Vergrösserung auf *S. muris*-Eier untersucht. Die bis dato in derselben Intensität durchgeführten parasitologischen Untersuchungen mittels Klebestreifenmethode bestätigen die *S. muris*-Freiheit der Labortierhaltung der F. Hoffmann – La Roche Ltd, Basel.

Zeitpunkt 2006 9.00-15.00 Uhr	J	F	M	<b>A</b>	M	J	J	A	S	O	N	D
Gebäude kontaminiert/ Gebäude gesamt	1/5	2/5	3/5	<b>3/5</b>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Haltungsräume kontaminiert/ Haltungsräume gesamt	1/16	3/16	5/16	<b>9/16</b>	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16
Rattenbestand	2258	2479	2625	<b>2358</b>	1573	2037	1676	1761	1751	1609	1142	819
Anzahl Rattenkäfige	1354	1487	1575	<b>1413</b>	943	1221	1019	1065	1049	863	840	527
Anzahl untersuchte Ratten	214	1487	1575	<b>1413</b>	943	1221	1019	1065	1049	863	840	527
<b>Anzahl Positive</b>	<b>26</b>	<b>361</b>	<b>949</b>	<b>38</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
Anzahl Negative	188	1126	626	<b>1375</b>	943	1221	1019	1065	1049	863	840	527
Befalls- extensität <sup>1</sup>	12%	24%	60%	<b>2%</b>	0	0	0	0	0	0	0	0

**Tabelle 4.3: Anzahl der entnommenen und untersuchten Proben im Rahmen des Eradikationsprogramms von *S. muris* bei Ratten im Jahr 2006. Am 10. April 2006 wurde mit dem Eradikationsprogramm begonnen (Fett: Beginn des Eradikationsprogramms; Fett und kursiv: Anzahl der positiven *S. muris* Proben während 2006).**

Um die Wirkung von Fenbendazol beurteilen zu können, wurden 10 *S. muris* positive Ratten vom 10. April 2006 bis 28. April 2006 auf *S. muris*-Eier untersucht. Nach dem 15. April wurden keine *S. muris*-Eier mehr in den Proben diagnostiziert. Die Resultate im Detail sind in der Tabelle 6.7 im Anhang dargestellt.

<sup>1</sup> prozentueller Anteil der infizierten Tiere in der untersuchten Population

## 4.2 Versuch 2

### 4.2.1 Der tageszeitliche Ei-Ausscheidungsrythmus je nach Geschlecht

Die Resultate der Klebestreifenmethode der weiblichen infizierten Wistar-Ratten sind in Abbildung 4.4 grafisch dargestellt. Die Ergebnisse im Detail sind in Tabelle 6.6 im Anhang dargestellt.

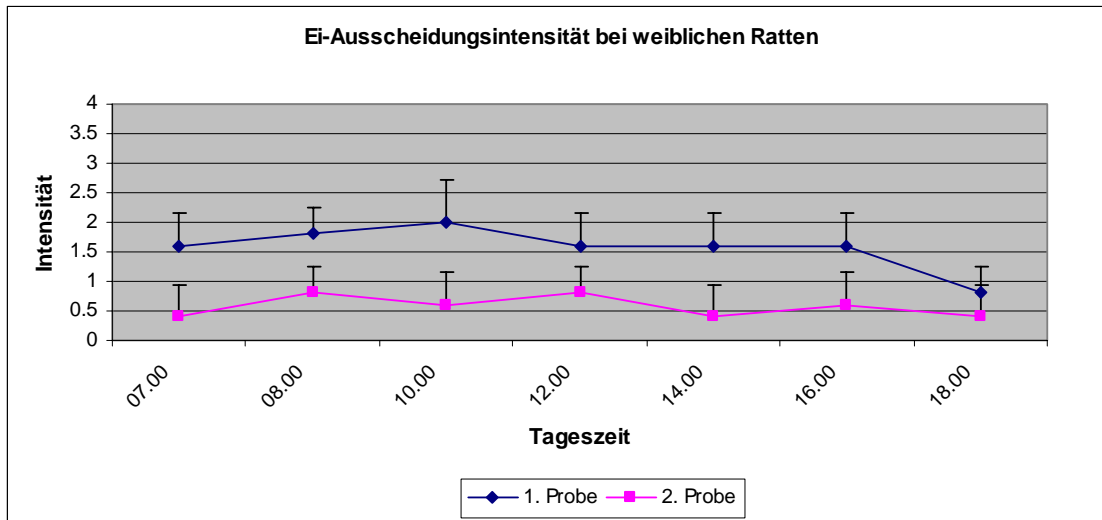


Abbildung 4.4: Die Resultate der Klebestreifenmethode der weiblichen infizierten Ratten in der ersten und zweiten Probe.

X-Achse zeigt die Tageszeit

Y-Achse zeigt den Mittelwert der Ei-Ausscheidungsintensität mittels der Klebestreifenmethode bei 9 infizierten **weiblichen** Wistar-Ratten in Gruppenhaltung  
n: 9

■ : Standardabweichung

Intensität: 0: keine *S. muris*-Eier in der Probe

1: weniger als 10 *S. muris*-Eier in der Probe

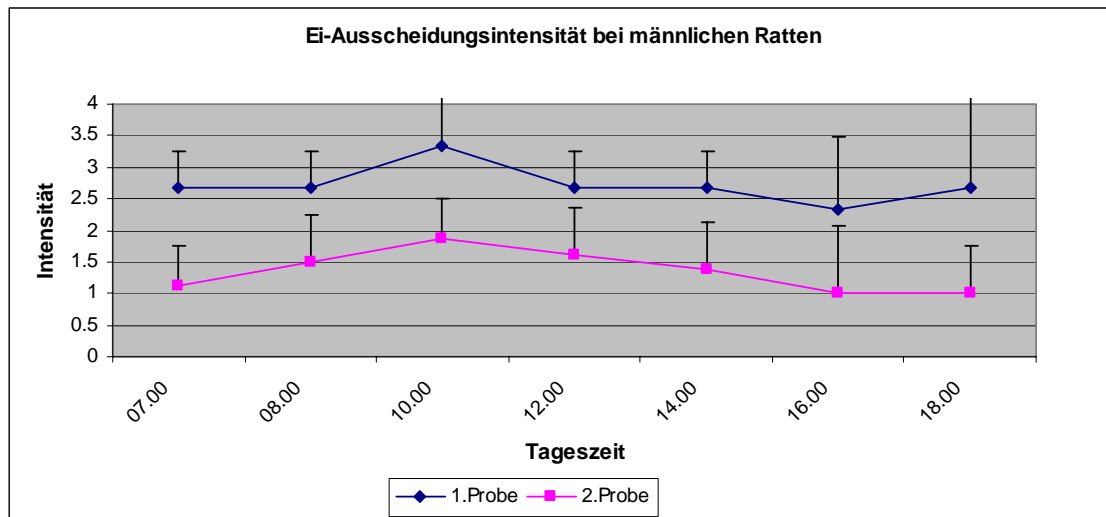
2: mehr als 10 *S. muris*-Eier gut verteilt in der Probe

3: mehr als 10 *S. muris*-Eier in einem Gesichtsfeld der Probe

4: mehr als 10 *S. muris*-Eier in mehreren Gesichtsfeldern der Probe



Die Resultate der Klebestreifenmethode der männlichen infizierten Wistar-Ratten sind in Abbildung 4.5 grafisch dargestellt. Die genauen Resultate sind in Tabelle 6.6 im Anhang dargestellt.



**Abbildung 4.5: Die Resultate der Klebestreifenmethode der männlichen infizierten Ratten in der ersten und zweiten Probe.**

X-Achse zeigt die Tageszeit

Y-Achse zeigt den Mittelwert der Ei-Ausscheidungsintensität mittels der Klebestreifenmethode bei 17 infizierten **männlichen** Wistar-Ratten

n: 17

■ : Standardabweichung

Intensität: 0: keine *S. muris*-Eier in der Probe

1: weniger als 10 *S. muris*-Eier in der Probe

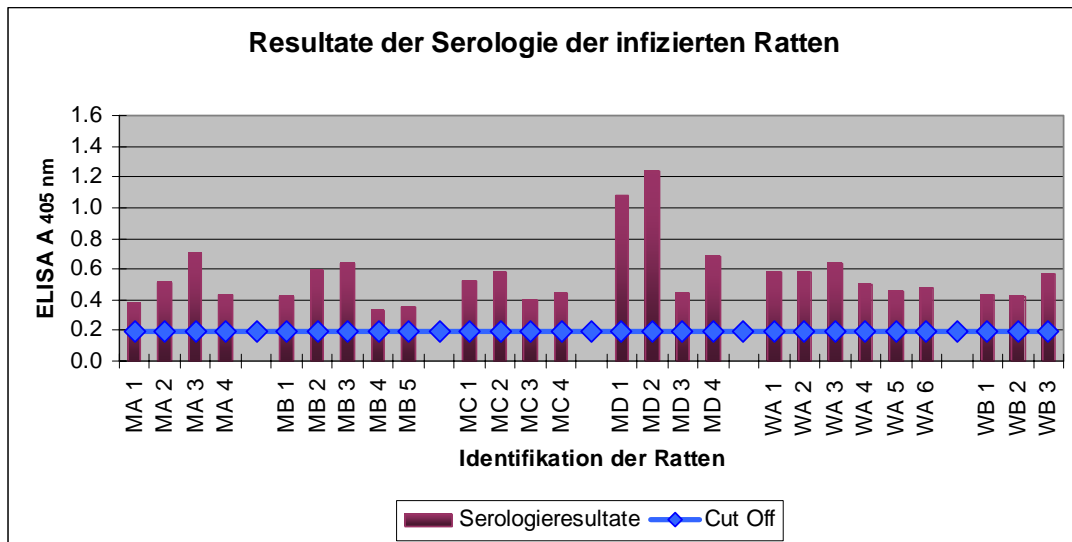
2: mehr als 10 *S. muris*-Eier gut verteilt in der Probe

3: mehr als 10 *S. muris*-Eier in einem Gesichtsfeld der Probe

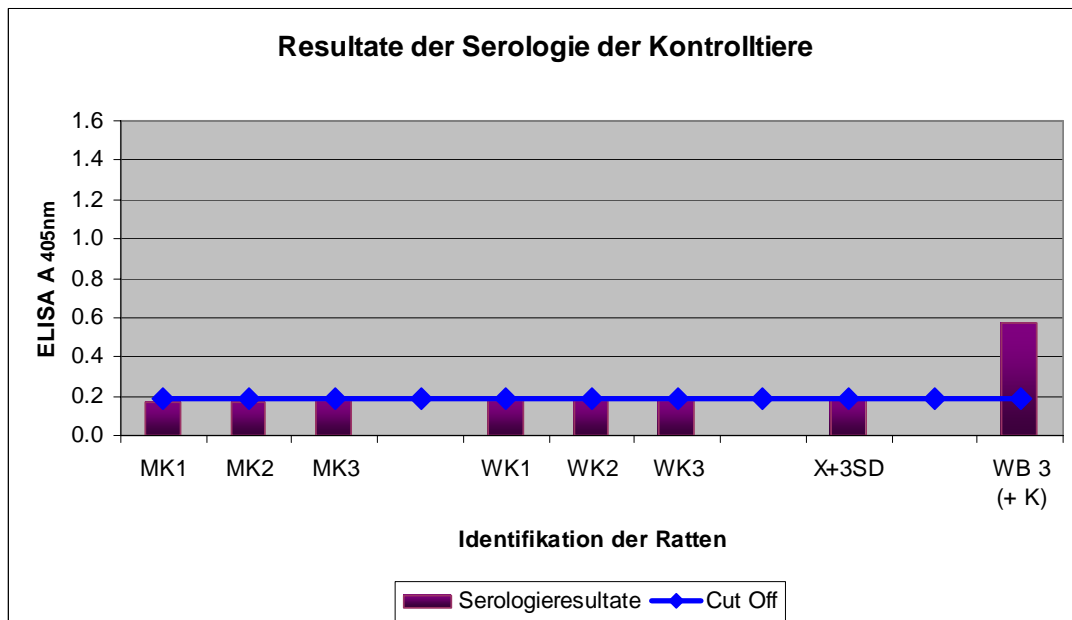
4: mehr als 10 *S. muris*-Eier in mehreren Gesichtsfeldern der Probe

## 4.2.2 Serologie

In den Abbildungen 4.6 und 4.7 sind die Resultate der serologischen Untersuchungen grafisch dargestellt. Bei allen infizierten Tieren sind die Resultate des ELISA deutlich über der Nachweisgrenze von 0.189 OD und bei den Kontrolltieren unter 0.189 OD.



**Abbildung 4.6: Spezifischer Antikörpernachweis gegen Adult-Antigen von *S. muris* mittels ELISA in infizierten Ratten, 2 Monate nach Infektion. Die Nachweise wurden mit 6 nicht infizierten Kontrolltieren bestimmt ( $x+3SD$ ). Identifikation der Tiere: M = männlich; W = weiblich.**



**Abbildung 4.7: Provisorische Cutt-Off-Bestimmung anhand von 6 Seren nicht infizierter Ratten (WK 1-3 und MK 1-3). Ratte WB 3 diente als positive Kontrolle.**

## 5 DISKUSSION

### 5.1 Die Untersuchungsmethode

Um *S. muris*-Infektionen bei Ratten zu diagnostizieren gibt es, wie schon unter 2.10.3 beschrieben, verschiedene Untersuchungsmethoden. Die Klebestreifenmethode ist das empfohlene Verfahren (GOETERS, 1952, HASSLINGER und WIETHE, 1987, PANTCHEV et al., 2005, PRITCHETT und JOHNSTON, 2002). Die Durchführung ist einfach und liefert zuverlässige Resultate, wenn dabei gewisse Aspekte beachtet werden, wie z.B. Probenahmezeit und Vermeidung von Aktivitätssteigerung. Die Probenahmen können während den laufenden Versuchen in den Haltungsräumen stattfinden und die Proben können innerhalb von Minuten parasitologisch untersucht werden. Die Klebestreifenmethode ist zuverlässiger als das Flotationsverfahren in verschiedenen Lösungen, das kombinierte Sedimentations- und Flotationsverfahren (PANTCHEV et al., 2005) und histopathologische Untersuchungen (EFFLER et al., 2006). PRITCHETT und JOHNSTON (2002) haben die Sensitivität der Klebestreifenmethode für *S. muris* mit 88% angegeben.

Die Klebestreifenmethode ist nicht dazu geeignet, die Eier der Parasiten in der Umgebung nachzuweisen. Sobald die Parasiten-Eier den Tierkörper verlassen, sind sie in der Umgebung breit verteilt. Im Vergleich zu der gesamten, kontaminierten Oberfläche ist die mit Klebestreifen erfassbare Oberfläche sehr klein.

Die Flotationsmethode in verschiedenen Lösungen wird in der Labortierhaltung häufig angewendet, um Kotproben auf Parasiten zu untersuchen, da sie einfach anzuwenden ist. Zum Nachweis von *S. muris* ist diese Methode jedoch nicht geeignet, da die Resultate nicht sehr aussagekräftig sind (PANTCHEV et al., 2005). Vom Lebenszyklus der Parasiten der Familie Oxyuridae ist bekannt, dass diese Parasiten erst dann Eier ausscheiden, wenn sie das Rektum verlassen haben. Im Kot findet man deshalb nur äusserst selten Oxyuridae-Eier. Ein Vorteil dieser Methode besteht darin, dass eine Sammelkotprobe zu jeder Zeit aus dem Käfig entnommen und direkt untersucht werden kann, ohne die Tiere während ihrer Ruhephase zu stören.

Nekroskopie und histopathologische Diagnoseverfahren sind häufig angewandte Methoden in Labors, welche Sentinel-Tiere im Rahmen von Gesundheitskontrollen auf Endoparasiten untersuchen. Gemäss den GV-SOLAS- und FELASA-Empfehlungen werden die Tiere mittels mikroskopischer Untersuchung von frischen, feuchten Ausstrichen des Caecuminhaltes und der Schleimhautschicht des Ileums, sowie mittels Flotation der Kotprobe, auf Endoparasiten untersucht. Diese Verfahren schränken die Aussagekraft des Parasiten-Monitorings im Rahmen der Gesundheitskontrolle ein, weil die *S. muris*-Infektion keine histopathologischen Veränderungen verursacht (LÜBCKE et al., 1992). Ebenso ist die Nekroskopie nicht zuverlässiger als die Klebestreifenmethode (EFFLER et al., 2006).

Obwohl *S. muris* den ganzen Lebenszyklus im Darmlumen verbringt und nicht in das Wirtsgewebe eindringt (SATO et al., 1995), entwickeln die Ratten Antikörper gegen *S. muris*. Im Rahmen dieser Arbeit wurden Antikörper gegen *S. muris* mittels ELISA 2 Monate nach der Infektion nachgewiesen, aber nicht näher untersucht, welche Arten von Antikörper gebildet werden und ab welchem Tag sie nachweisbar sind. Neben *S. muris*-Antigenen wurden auch *Toxocara canis*-, *Uncinaria*-, *Ostertagia*- und *Dirofilaria*-Antigene auf die Kreuzreaktion mit *S. muris*-Antikörper untersucht und keine Reaktion beobachtet. Vergleichbare Untersuchungen haben SATO et al. im Jahre 1995 gemacht und festgestellt, dass die Mäuse 12 Tage nach der Infektion mit *S. obvelata* nachweisbare Antikörper bilden und die Antikörper eine Kreuzreaktion mit anderen Syphacia-Arten, inklusive *S. muris* zeigen.

Obwohl insgesamt 7 von 26 Ratten mittels der Klebestreifenmethode als *S. muris*-negativ eingestuft wurden, wurden auch bei diesen Tieren serologisch Antikörper gegen *S. muris* mittels ELISA nachgewiesen. Diese Ratten hatten nachweislich Kontakt mit den Parasiten, da sie mindestens mit einer *S. muris*-positiven Ratte im gleichen Käfig gehalten wurden. Diese Parasiten haben sich jedoch aus uns unbekannten Gründen nicht weiter bis zur Geschlechtsreife entwickelt oder die Infektion wurde durch die Tiere eliminiert, so dass mittels der Klebestreifenmethode keine Eier nachweisbar waren oder nicht zuverlässig nachgewiesen werden konnten.

## **5.2 Der tageszeitliche Untersuchungszeitpunkt**

Seit van der GULDEN im Jahre 1967 beschrieben hat, dass *S. muris*-Weibchen nur früh vormittags im Enddarm nachgewiesen wurden und nachmittags mehr Eier diagnostiziert wurden als vormittags, geht man davon aus, dass *S. muris* einen Tagesrhythmus bei der Ei-Ausscheidung hat, wie auch *E. vermicularis* beim Menschen (GOETERS, 1952). Van der GULDEN hat damals für die Untersuchungen der Ratten auf *S. muris* den Nachmittag empfohlen. Für kleine Tierbestände sind die Empfehlungen meist einfach realisierbar, jedoch sind Untersuchungen in grösseren Betrieben am Nachmittag aus organisatorischen Gründen schwieriger durchzuführen. Im Falle von einzeln gehaltenen Tieren erhöht sich der Aufwand nochmals erheblich. Um ein Eradikationsprogramm erfolgreich zu gestalten, ist es unbedingt notwendig alle empfänglichen Tiere in der epidemiologischen Einheit zu untersuchen.

Aufgrund der von uns durchgeführten Versuche wurde festgestellt, dass die *S. muris*-Infektion bei Ratten in beiden Geschlechtern und auch in beiden Haltungsformen zwischen 07.00 und 17.00 Uhr erfolgreich mittels der Klebestreifenmethode diagnostiziert werden kann. Aus dem zirkadianen Rhythmus der Ratte ist bekannt, dass die Ratten bis eine Stunde vor und nach dem Lichtwechsel immer noch aktiv sind und häufig Selbsthygiene betreiben. Dadurch nimmt die Anzahl der Eier im Perianalbereich der Ratten ab und schränkt somit die Sensitivität der Klebestreifenmethode ein.

Im Gegensatz zu van der GULDEN's Beobachtungen wurden in unseren Untersuchungen sowohl vormittags als auch nachmittags mittels Klebestreifenmethode *S. muris*-Eier im Perianalbereich der Ratten nachgewiesen. Sowohl morgens als auch nachmittags wurden auf den Proben *S. muris*-Weibchen bei der Eiablage identifiziert.

### **5.3 Management von *Syphacia muris*-Infektionen in Zuchtbetrieben**

Heutzutage verfügen alle national und international anerkannten Züchter von Labortieren über geschlossene Haltungssysteme. Die Zuchttiere stammen aus eigener Zucht oder aus kontrollierten Betrieben mit einem definierten Hygienestatus. Alle Mitarbeiter sind über die mögliche Einschleppung von Infektionserregern informiert. Die Personenanzahl, welche die Tierhaltungsräume betreten darf, ist auf ein Minimum reduziert. Futter, Wasser und sonstiges Equipment wird vorbehandelt, um die Einschleppungsgefahr zu minimieren. Sobald in einer Einheit ein pathogener Erreger diagnostiziert wird, werden alle Kunden informiert und die betroffene Einheit, je nach Schweregrad, mit unterschiedlichen Strategien saniert.

Im Vergleich zu einem Institut mit laufenden Versuchen erfordert das *S. muris*-Sanierungsprogramm für Züchter weniger Aufwand, da sie keine Versuche durchführen. Sie können ihre Betriebe über längere Zeit mit Substanzen behandeln, welche keinerlei Auswirkungen auf den Zuchterfolg hat.

Die Untersuchungen von BARRON et al. (2000) bestätigen den Erfolg dieses Managements bei den Zuchtbetrieben. BARRON et al. (2000) haben festgestellt, dass eine Fenbendazol-Behandlung während der Trächtigkeit und Laktation zu keinen Verhaltensveränderungen bei den Nachkommen führt. Die Nachkommenzahl sowie deren Entwicklung werden durch die Behandlung mit Fenbendazol nicht beeinflusst.

Im Gegensatz dazu ist Ivermectin ungeeignet um *S. muris*-Infektionen in Zuchtbetrieben zu eliminieren. Es wurde nachgewiesen (LANKAS et al., 1989), dass die Behandlung von trächtigen Ratten mit Ivermectin dazu führt, dass sich das Mittel in der Muttermilch anreichert, bei den Neugeborenen die Blut-Hirn Schranke überwindet und somit Wachstumsverzögerungen verursacht und zu einer erhöhten Todesrate führt.

Unter diesen Umständen ist das Management der *S. muris*-Infektion in einem Zuchtbetrieb zwar aufwendig, jedoch einfach zu gestalten. Das geeignete Mittel dafür ist Fenbendazol, welches keine negative Auswirkung auf die Zucht hat.

## **5.4 Management von *Syphacia muris*-Infektionen in der Forschung**

Die Verhältnisse in einem pharmazeutischen Institut sind anders, als die in einem Zuchtbetrieb oder in einer Privathaltung. Es werden hier diverse Substanzen unter definierten Bedingungen an den Versuchstieren getestet. Das veterinärmedizinische Ziel besteht in der Labortierhaltung darin, die Erhaltung oder Wiederherstellung der Gesundheit der Versuchstiere durch hygienische Massnahmen sicherzustellen. Bei Haltungen mit hohem hygienischem Standard erübrigt sich auch bei immundefizienten Tieren eine prophylaktische Behandlung mit Antibiotika oder Chemotherapeutika. Wichtige Gründe schliessen den Einsatz von Medikamenten, wie er in der tierärztlichen Praxis für die Prophylaxe und Therapie von Einzeltieren üblich ist, in der Versuchstierhaltung aus.

Allgemeine Gründe gegen therapeutische Massnahmen in der Versuchstierhaltung:

- Eliminierung der Erreger ist meist unvollständig und unzuverlässig.
  - Zeitweilige Maskierung der Infektion während der Behandlungsphase, falsch negative Untersuchungsergebnisse.
  - Mögliche Störung des mikrobiologischen Gleichgewichts, eventuelle Bevorzugung anderer unerwünschter Keime.
  - Gefahr des Auftretens von Resistenzen bei Mikroorganismen.
  - Gefahr negativer Nebenwirkungen auf das Tier und/oder auf das Experiment.
- (BOOT et al., 1999)

Für virale und bakterielle Infektionen sind diese Argumente vollkommen gerechtfertigt, da die Diagnose und die Ausmerzungen, je nach Art des Erregers, eher schwierig oder teilweise sogar unmöglich sind. Bei parasitären Infektionen sind therapeutische Massnahmen jedoch grundsätzlich durchführbar.

Die von HUERKAMP et al. (2000) beschriebene Standardmethode für eine parasitäre Kontrolle ist für *S. muris*-Infektionen in einem pharmazeutischen Institut nicht anwendbar. Er empfiehlt die Tötung von allen empfänglichen Versuchstieren (Depopulation), die Dekontamination aller Haltungsräume inkl. der Laboreinrichtungen und den Neuaufbau mit neuen, erregerefreien Versuchstieren (Repopulation). Mit den heutigen therapeutischen Möglichkeiten kann man ein *S. muris*-Eradikationsmanagement in einem grossen pharmazeutischen Institut ohne Depopulation und auch ohne Dekontamination gestalten. Eine Depopulation ist wegen laufender Versuche unmöglich und aufgrund des Mangels an effektiven Dekontaminationsmöglichkeiten auch unnötig.

Im Allgemeinen muss das Mittel für eine optimale Dekontamination von Haltungsräumen und Laboreinrichtungen, bei korrekter Temperatur, korrekter relativer Luftfeuchtigkeit und in korrekter Konzentration, über einen bestimmten Zeitraum angewendet werden. Das Mittel muss zudem für die Laboreinrichtungen, die Umwelt und für den Anwender unschädlich sein. DIX et al. (2004) haben festgestellt, dass eine Temperatur von mindestens 100°C während 30 Minuten, zusammen mit Ethylenoxiden,

die *S. muris*-Eier wirkungsvoll (100%) inaktiviert. Formaldehyd-Gas und Chlordioxid dagegen, haben nur eine 94%ige bzw. 96%ige Wirkung auf *S. muris*-Eier. Keines der erwähnten Mittel erfüllt die Anforderungen für eine optimale Dekontamination der Laboreinrichtungen.

Diese Kenntnisse erschweren die Dekontaminationsmöglichkeiten drastisch. Eine Temperatur von 100°C ist nur bei bestimmten Geräten, wie Käfigmaterial und an den Wänden realisierbar. Empfindliche Instrumente und Geräte können mit dieser Methode nicht desinfiziert werden. Ethylenoxide hinterlassen einen Film auf Mikroskopen und anderen EDV-Geräten und sind deshalb kein geeignetes Mittel für die Dekontamination der Umgebung bei einer *S. muris*-Infektion.

Argumente für ein therapeutisches *S. muris*-Eradikationsprogramm in einem pharmazeutischen Institut:

- *S. muris* ist einfach und sicher mittels Klebestreifenmethode nachzuweisen.
- Eine mehrmalige Untersuchung der Versuchstiere ist möglich um die Infektionsquelle zu bestimmen.
- Adulte *S. muris*, sowie alle Larvenstadien, können durch den Einsatz von diversen Medikamenten eliminiert werden.
- In einem pharmazeutischen Institut laufen immer gleichzeitig unterschiedliche Langzeitversuche, welche mit der gleichen Population fortgesetzt werden müssen. Eine Depopulation ist daher praktisch ausgeschlossen.
- Eine chemische oder thermale Dekontamination ist nur für Haltungsräume oder Käfige möglich. Für das übrige Equipment ist sie nicht durchführbar.
- Neuinfektionen finden nicht durch die Repopulation aus den Zuchten statt, sondern die mit überlebensfähigen *S. muris*-Eiern kontaminierten Laboreinrichtungen im Institut selbst stellen eine ständige Gefahr für eine Reinfektion dar.
- Fenbendazol wirkt im Körper auf *S. muris* sowohl larvizid als auch adultizid und hat in der Dosis von 7.5 mg/kg KGW/Tag keine negativen Auswirkungen auf die Umwelt, die Tiergesundheit und die Versuchsergebnisse.

Um den therapeutischen Erfolg eines Eradikationsprogramms sicherzustellen, muss es in einer kontrollierten epidemiologischen Einheit durchgeführt werden. Die Zielpopulation muss von Anfang an genau definiert und neue Erregereinschleppungen verhindert werden.

In einem grossen pharmazeutischen Institut stösst die Umsetzung eines solchen Programmes an seine Grenzen.

Die F. Hoffmann-La Roche Ltd, Basel, besteht aus mehreren Forschungs- und Tierhaltungsräumen. Diese sind räumlich voneinander getrennt, aber funktionell miteinander verbunden. Wie JACOBBER et al. (2004) beschrieben haben, muss bei einer parasitären Infektion mit bekanntem Ursprung die gesamte epidemiologische Einheit berücksichtigt werden.



In einem solchem Institut werden je nach Fragestellung aus unterschiedlichen Zuchtbetrieben verschiedene Labortiere angeliefert. Bei jeder Anlieferung besteht eine Einschleppungsgefahr. Konsequenterweise durchgeführte Eintrittsuntersuchungen und die Tierlieferungen begleitende Hygienezeugnisse dokumentieren den Gesundheitsstatus der Neuzugänge. Momentan besteht bei den Anlieferungen von national und international anerkannten Züchtern keine Gefahr für *S. muris*-Infektionen. Diese heute selbstverständliche Situation war in den siebziger Jahren anders. HASSLINGER und HÖRHAMMER (1971) haben in 148 von 232 Proben Eier von *S. muris* diagnostiziert. Diese 232 Proben stammten aus sieben konventionellen Haltungen namhafter Züchter aus Deutschland.

Geschlossene Haltungsbedingungen in einem pharmazeutischen Institut zu schaffen, ist praktisch nicht möglich, da viele verschiedene Personen, wie Veterinärdienst-Mitarbeiter, Tierpfleger, Laboranten, Forscher, Verwaltungspersonal und sonstige Personen, Zugang zu diesen Haltungsräumen haben. Die Mitarbeiterzahl ist in einem solchen Institut enorm hoch und gegebenenfalls müssen die Tierpfleger bereichsübergreifende Dienste leisten.

Je nach Fragestellung werden in einem pharmazeutischen Institut bestimmte Substanzen in akuten oder chronischen Langzeitversuchen erforscht. Dieser Aspekt hat auch Konsequenzen für das *S. muris*-Eradikationsprogramm und muss bei der Elimination von *S. muris*-Infektionen berücksichtigt werden. Das Eradikationsprogramm darf die laufenden Versuche nicht beeinflussen und der angewandte Wirkstoff darf mit den zu testenden Substanzen keinerlei Interaktionen zeigen.

Gerade bei den unter GLP durchgeführten Versuchen sind jegliche Fremdstoffe verboten. Dieses Verbot begrenzt die einheitliche, epidemiologische Behandlung aller Versuchstiere in einem Institut.

In der ZNS-Forschung werden meist Langzeitversuche mit gestressten Versuchstieren in komplexen Laboreinrichtungen durchgeführt. Es ist schwierig oder gar unmöglich dieses Equipment zu desinfizieren und daher stellt dieses für die Ratten eine permanente Ansteckungsquelle dar. Permanentem Stress ausgesetzte Versuchstiere sind zudem empfänglicher für Infektionen, was die Therapie zusätzlich erschwert. HUERKAMP et al. (2000) und BARLOW et al. (2005) haben auch beschrieben, dass *S. muris* in der ZNS-Forschung relativ häufig vorkommt und deshalb schwer zu eliminieren ist.

Die Versuche werden hauptsächlich in den Labors gemacht, ohne die Tiere in ihren Haltungsräumen zu stören. In diversen Abteilungen wurde ein Teil der Versuche durch MRI-Untersuchungen unterstützt. Das MRI-Zentrum ist in einem Gebäude isoliert. Die Ratten, welche mittels MRI untersucht werden müssen, stammen zum Teil aus infizierten Tierhaltungsräumen und gehen nach der MRI-Untersuchung wieder in die ursprünglichen Haltungsräume zurück. In diesem System stellt das MRI-Zentrum eine Hauptkontaminationsquelle für die Tiere aus den unterschiedlichen Haltungsräumen dar. Die Verbreitungsgefahr der *S. muris*-Infektion ist unter diesen Umständen somit extrem begünstigt.

Ein weiterer, zu berücksichtigender Faktor beim Management eines Eradikationsprogramms, ist die Applikation von den zu erforschenden Substanzen über das Futter. In diesem Fall dürfen die Tiere ausschliesslich nur mit der Testsubstanz behandelt werden. Somit ist die Behandlung der gesamten epidemiologischen Einheit gegen *S. muris* mittels Medizinalfutter unmöglich.

Die MitarbeiterInnen selber können unbewusst die Rolle mechanischer Vektoren für *S. muris* übernehmen, wenn sie zu Hause selber Ratten als Haustiere halten oder Kontakt mit Ratten haben, z.B. als Futter für Schlangen. In der privaten Rattenhaltung geht man heutzutage davon aus, dass alle Ratten in der Hobbyhaltung mit *S. muris* infiziert sind. Das bestätigen auch unsere eigenen Untersuchungen. Wir haben in einem Zeitraum von 6 Monaten in 5 Zoofachgeschäften über 50 Ratten untersucht, welche für den Verkauf vorgesehen waren. In allen 50 Proben konnten wir *S. muris*-Eier identifizieren.

## 5.5 Flankierende Massnahmen

Ein sehr häufiger Grund für den Misserfolg von diversen Eradikationsprogrammen ist die Neuinfektion des Bestandes mit *S. muris* nach Abschluss des Programms. Die *S. muris*-Eier werden hauptsächlich durch unkontrollierte Zufuhr von bereits infizierten Tieren, oder durch die Einschleppung der L1 in Eiern aus privaten Rattenhaltungen, in sanierte Labortierhaltungen eingeschleppt. Unter den heutigen Anforderungen sind die Züchter gezwungen, ihre Bestände zu sanieren und die Kunden frühzeitig zu informieren, wenn in einer Zuchteinheit eine *S. muris*-Infektion auftritt. Sie müssen auch regelmässig die Resultate, der gemäss FELASA-Empfehlungen durchgeführten Gesundheitskontrollen, den Kunden mitteilen.

Aus der Biologie der Nematoden ist bekannt, dass Nematoden-Eier über längere Zeit in der Umwelt persistieren können. Die Eischale verleiht dem Parasiten eine zusätzliche Schutzmöglichkeit gegenüber Umweltfaktoren. Bei *S. muris* könnte die Tenazität bis zu drei Monate dauern. Es existieren diesbezüglich keine veröffentlichten Berichte, jedoch scheitern alle Eradikationsprogramme, welche kürzer als drei Monate andauern. Dies könnte ein Hinweis für die hohe Tenazität der *S. muris*-Eier sein. Wenn die Mitarbeiter/innen sich dieses Einschleppungsrisikos, das durch die hohe Tenazität besonders gross ist, nicht bewusst sind, besteht die Gefahr, dass Mitarbeiter als mechanische Überträger bei den Neuinfektionen eine entscheidende Rolle spielen.

Da die *S. muris*-Infektion bei den Ratten keine klinischen Symptome verursacht, hat dieser Parasit für die private Rattenhaltung keine Bedeutung. Viele Rattenbesitzer wissen überhaupt nicht, dass ihre Tiere mit *S. muris* infiziert sind. In der konventionellen Versuchstierhaltung ist nicht auszuschliessen, dass Mitarbeiter privat Ratten zu Hause halten und somit den Erreger einschleppen, da sie bei den eigenen Tieren keine klinischen Veränderungen feststellen können und somit ihre Ratten für gesund halten.

Trotz nicht 100%iger Wirksamkeit helfen die praxisüblichen, einfachen Reinigungs- und Desinfektionsmassnahmen bei einem erfolgreichen Eradikationsprogramm (DIX et al., 2004). Dadurch wird die Möglichkeit einer Infektion durch die Umgebung und die Verbreitungsgefahr innerhalb der Labortierhaltung auf ein Minimum reduziert.

Die getrennte Haltung von den in chronischen und akuten Versuchen eingesetzten Ratten reduziert das Infektionsrisiko der neu im Betrieb angelieferten Ratten weiter.

Der Einstreuwechsel ausserhalb der Tierhaltungsräume, mit Hilfe einer Absauganlage, reduziert zusätzlich die aerogene Übertragung.

## **5.6 Empfehlungen**

### **5.6.1 Wirkstoff**

Mit den heute vorhandenen Wirkstoffen ist es möglich, *S. muris*-Infektionen in einem Bestand durch eine Behandlung zu sanieren. Um dieses Ziel zu erreichen, sollte ein Mittel mit hoher Wirksamkeit auf Eier, Larven und adulte Stadien von *S. muris* im Wirt, in der richtigen Dosis lange genug angewendet werden. Fenbendazol, und zu einem gewissen Mass auch Ivermectin, entsprechen diesen Anforderungen für die Labortierhaltung. Mit einem auf die Haltung zugeschnittenen Behandlungsprotokoll ist die Sanierung möglich. In den Labortierhaltungen der pharmazeutischen Institute gibt es auch Ratten, die reduziert Futter aufnehmen müssen. Bei der Berechnung der Dosis, sollte diese Tatsache unbedingt berücksichtigt werden. Bei der *S. muris*-Eradikation durch eine Behandlung ist Fenbendazol zu bevorzugen. Sowohl in den Zuchtbetrieben als auch in den pharmazeutischen Labortierhaltungen hat Fenbendazol in einer Dosis von 7.5 mg/kg KGW/Tag keine Nebenwirkungen gezeigt (NICKLAS et al., 1984).

Ivermectin reichert sich in der Muttermilch an und erreicht toxische Werte in neugeborenen Ratten. Deshalb ist Ivermectin nicht für eine Langzeitbehandlung gegen *S. muris*-Infektionen in Zuchtbetrieben geeignet (LANKAS et al., 1989). Des Weiteren wirkt Ivermectin an den GABA-Rezeptoren, was sich nicht immer mit der Forschung vereinbaren lässt. Aus diesen Gründen wurde Ivermectin in unserem Eradikationsprogramm nur für kurze Zeit, zweimal für sechs Tage im Abstand von einer Woche, eingesetzt.

### **5.6.2 Behandlungsdauer**

Die Behandlungsdauer ist ein wichtiger Aspekt bei einem *S. muris*-Eradikationsprogramm. Obwohl keine gesicherten Erkenntnisse über die Überlebensdauer der infektiösen Stadien von *S. muris*-Eiern mit L1 in der Eierschale vorliegen, geht man heutzutage davon aus, dass sie bis zu drei Monate in der Umgebung infektiös bleiben können. Aus diesem Grunde sollte eine Behandlung mindestens während 3 Monaten durchgeführt werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Behandlung während 5 Monaten durchgeführt. Ein Jahr nach letzter Medizinalfuttermittelgabe ist der Versuchstierkolonie immer noch frei von *S. muris*-Infektion.

### **5.6.3 Tiermanagement**

Als wichtigste flankierende Massnahme sollten alle Tierbewegungen in einer Labortierhaltung strikt kontrolliert werden. Eine Neuzufuhr darf nur noch nach einer Hygienekontrolle, entweder durch den Züchter oder nach der Quarantäne, bewilligt werden.

#### **5.6.4 Sensibilisierung der Mitarbeiter**

Alle Mitarbeiter einer Labortierhaltung müssen über die konstant möglichen Einschleppungsgefahren informiert werden. Sie sollten keinen Kontakt mit Ratten oder anderen empfänglichen Nagetieren, wie Mäusen, Hamstern und Gerbils, ausserhalb der Labortierhaltung haben (NICKLAS et al., 1984).

Um dieses Einschleppungsrisiko durch die Mitarbeiter zu minimieren, wurden unter der Leitung des Facility Managers alle Mitarbeiter über dieses Risiko informiert und darum gebeten, dass sie sich beim Veterinärdienst melden sollen, um die privat gehaltenen Ratten untersuchen zu lassen und diese gegebenenfalls ins Eradikationsprogramm mit einzuschliessen.

## **5.7 Schlussfolgerung**

Es wurde festgestellt, dass *S. muris*-infizierte Ratten am Tag mehrmals Eier ausscheiden und die Diagnose einer *S. muris*-Infektion mittels der Klebestreifenmethode im Perianalbereich der infizierten Ratten tagsüber zwischen 07.00-17.00 Uhr möglich ist.

Die Klebestreifenmethode ist eine leicht durchzuführende, wirtschaftliche und zuverlässige, jedoch zeitaufwendige Methode, um eine *S. muris*-Infektion bei Ratten während laufender Versuche nachzuweisen.

Der serologische Nachweis von *S. muris* mittels ELISA ist ein Verfahren, welches noch weiter entwickelt und verfeinert werden muss. Durch dieses Verfahren können Antikörper gegen *S. muris* nachgewiesen werden. Im Vergleich zur Klebestreifenmethode ist der serologische Nachweis aufwendiger, da er zeitlich und technisch einen höheren Aufwand erfordert. Eine weitere einschränkende Tatsache besteht darin, dass es Zeit braucht, bis nachweisbare Antikörper im Blut gebildet werden. Wie hoch die Aussagekraft der Serologie bei immundefizienten Ratten ist, muss weiter untersucht werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde festgestellt, dass die *S. muris*-Infektion in einem Institut mit wenig Aufwand, ohne Dekontamination, Depopulation und Repopulation, mit heute zur Verfügung stehenden Mitteln, erfolgreich eliminiert werden kann. Fenbendazol wirkt larvizid und adultizid auf *S. muris*. Zudem ist das Mittel im Gegensatz zu Ivermectin für eine Langzeitbehandlung zwecks Eradikation von *S. muris*-Infektionen in der Zucht und auch in der Forschung sehr gut geeignet.

Damit ein Eradikationsprogramm zum Erfolg führt, müssen alle Mitarbeiter des Instituts auf die Tenazität der *S. muris*-Eier hinreichend sensibilisiert werden.

## 6 ANHANG: ERGEBNISSTABELLEN

**Tabelle 6.1:** Die Resultate der Untersuchungen, um *S. muris*-Eier auf dem Rattenkörper zu identifizieren. Die Nummern 1-28 beziehen sich auf die Einteilung der Rattenkörperoberfläche in Kapitel 4.1.1, R1-R10 sind die SHR/NCrlco Ratten, welche in einem Haltungsraum einzeln gehalten wurden.

	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10
1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
4	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
5	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

### Bewertung:

- keine *S. muris*-Eier in der Probe
- + weniger als 10 *S. muris*-Eier in der Probe
- ++ mehr als 10 *S. muris*-Eier gut verteilt in der Probe
- +++ mehr als 10 *S. muris*-Eier in einem Gesichtsfeld der Probe
- ++++ mehr als 10 *S. muris*-Eier in mehreren Gesichtsfeldern der Probe
- W Würmer in der Probe gefunden

**Tabelle 6.2:** Der tageszeitliche Ausscheidungsrythmus von *S. muris*-Eiern bei den spontan infizierten SHR/NCrlco Ratten. Kontrolle durch stündliche Klebestreifenprobenahme aus dem Perianalbereich im Haltungsraum. S1-S10 sind die Ratten, welche im selben Haltungsraum in Typ 3 Makrolon Käfigen einzeln gehalten wurden.

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
06.00	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
07.00	+	+++ ,W	+	+	+	+	+	+	-	+
08.00	+	+++	++	+	-	+	-	+	++	+++
09.00	+++ ,W	+++ ,W	+	+	+	+	+	+++	+++	+
10.00	++	+	+	+++	+	+	+	+++	+	++
11.00	+	+	+	+	+	++	-	+++	+	+
12.00	+	+	+	+	++	++	+	+++	+,W	+
13.00	+	+,W	+	+	+	++	-	+++	+	+
14.00	+	+,W	-	+	+	+	-	+++	+	+
15.00	+	-	-	+	+	+	-	++	+	+
16.00	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
17.00	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+
18.00	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-

### Bewertung:

- keine *S. muris*-Eier in der Probe
- + weniger als 10 *S. muris*-Eier in der Probe
- ++ mehr als 10 *S. muris*-Eier gut verteilt in der Probe
- +++ mehr als 10 *S. muris*-Eier in einem Gesichtsfeld der Probe
- ++++ mehr als 10 *S. muris*-Eier in mehreren Gesichtsfeldern der Probe
- W Würmer in der Probe gefunden



**Tabelle 6.3:** Der tageszeitliche Ausscheidungsrythmus von *S. muris*-Eiern bei den spontan infizierten HsdOla:LH Ratten. Kontrolle durch stündliche Klebestreifenprobenahme aus dem Perianalbereich im Haltungsraum. H1-H10 sind die Ratten in Gruppenhaltung.

	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10
06.00	++	+++	++	++	+	++	++	+	+	+++
07.00	+	+++	+	++	+	+	++	+	+	+++
08.00	+	+	+++	+	++	+	+	+	++	+++
09.00	++	+	++	+	+	+	+	+	+	++
10.00	+	++	+	+	+	-	+	+	+	+
11.00	++	++	++	+	++	++	++	+	+	+
12.00	+	++	++	++	+	+	++	+	+	+
13.00	++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+
14.00	++	+	+	+	++	++	+	+	+	+
15.00	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+
16.00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17.00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18.00	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+

#### Bewertung:

- keine *S. muris*-Eier in der Probe
- + weniger als 10 *S. muris*-Eier in der Probe
- ++ mehr als 10 *S. muris*-Eier gut verteilt in der Probe
- +++ mehr als 10 *S. muris*-Eier in einem Gesichtsfeld der Probe
- ++++ mehr als 10 *S. muris*-Eier in mehreren Gesichtsfeldern der Probe
- W Würmer in der Probe gefunden

**Tabelle 6.4:** Resultate der Untersuchungen bei den Kontrolltieren (A1-A10), 10 *S. muris* negative SHR/NCrlco Ratten, welche getrennt von den *S. muris* infizierten Tieren in einem anderen Haltungsraum einzeln gehalten wurden.

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
06.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
07.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
08.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
09.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

#### **Bewertung:**

- keine *S. muris*-Eier in der Probe
- + weniger als 10 *S. muris*-Eier in der Probe
- ++ mehr als 10 *S. muris*-Eier gut verteilt in der Probe
- +++ mehr als 10 *S. muris*-Eier in einem Gesichtsfeld der Probe
- ++++ mehr als 10 *S. muris*-Eier in mehreren Gesichtsfeldern der Probe
- W Würmer in der Probe gefunden

**Tabelle 6.5:** Resultate der Untersuchungen bei den Kontrolltieren (D1-D10), 10 *S. muris* negative HsdOla:LH Ratten in Gruppenhaltung, die getrennt von *S. muris* infizierten Ratten in einem anderen Haltungsraum gehalten wurden.

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
06.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
07.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
08.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
09.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

#### **Bewertung:**

- keine *S. muris*-Eier in der Probe
- + weniger als 10 *S. muris*-Eier in der Probe
- ++ mehr als 10 *S. muris*-Eier gut verteilt in der Probe
- +++ mehr als 10 *S. muris*-Eier in einem Gesichtsfeld der Probe
- ++++ mehr als 10 *S. muris*-Eier in mehreren Gesichtsfeldern der Probe
- W Würmer in der Probe gefunden

**Tabelle 6.6:** Resultate der Untersuchungen am Institut für Labortierkunde der Universität Zürich am 23.11.2006, 63 Tage nach dem Zusammensetzen mit den natürlich infizierten Ratten.

			07.00	08.00	10.00	12.00	14.00	16.00	18.00
Käfig WK	WK1	1.P	-	-	-	-	-	-	-
		2.P	-	-	-	-	-	-	-
	WK2	1.P	-	-	-	-	-	-	-
		2.P	-	-	-	-	-	-	-
	WK3	1.P	-	-	-	-	-	-	-
		2.P	-	-	-	-	-	-	-
Käfig MK	MK1	1.P	-	-	-	-	-	-	-
		2.P	-	-	-	-	-	-	-
	MK2	1.P	-	-	-	-	-	-	-
		2.P	-	-	-	-	-	-	-
	MK3	1.P	-	-	-	-	-	-	-
		2.P	-	-	-	-	-	-	-
			07.00	08.00	10.00	12.00	14.00	16.00	18.00
Käfig WA	WA1	1.P	-	-	-	-	-	-	-
		2.P	-	-	-	-	-	-	-
	WA2	1.P	-	-	-	-	-	-	-
		2.P	-	-	-	-	-	-	-
	WA3	1.P	+++	+++	++++	+++	+	+++	+++
		2.P	+	++	+	+	+	+	+
	WA4	1.P	+++	+++	++	+	+++	+++	+
		2.P	+	+	+	-	+	+	-
	WA5	1.P	++	+++	++++	+++	++	+	-
		2.P	+	++	++	++	+	-	+
	WA6	1.P	++	+++	++	+++	++	+	+
		2.P	+	++	+	+	+	-	-
Käfig WB	WB1	1.P	-	-	-	-	-	-	-
		2.P	-	-	-	-	-	-	-
	WB2	1.P	-	-	-	-	-	-	-
		2.P	-	-	-	-	-	-	-
	WB3	1.P	-	-	-	-	-	-	-
		2.P	-	-	-	-	-	-	-

WK: weibliche Kontrolltiere

MK: männliche Kontrolltiere

WA, WB: weibliche Tiere in Gruppen A und B

1.P: erste Probe vor der Reinigung des Perianalbereiches

2.P: zweite Probe unmittelbar nach der Reinigung des Perianalbereiches

### Bewertung:

- keine *S. muris*-Eier in der Probe
- + weniger als 10 *S. muris*-Eier in der Probe
- ++ mehr als 10 *S. muris*-Eier gut verteilt in der Probe
- +++ mehr als 10 *S. muris*-Eier in einem Gesichtsfeld der Probe
- ++++ mehr als 10 *S. muris*-Eier in mehreren Gesichtsfeldern der Probe
- W Würmer in der Probe gefunden

**Tabelle 6.6: Fortsetzung**

			07.00	08.00	10.00	12.00	14.00	16.00	18.00
Käfig MA	MA1	1.P	+	+	-	+++	++	+	-
		2.P	-	-	-	+	-	-	-
	MA2	1.P	+++	++	++	+	+	-	-
		2.P	+	+	++	+	+	-	-
	MA3	1.P	+++	+++	++++	+++	++	+	+
		2.P	++	++	++	+++	+	-	+
	MA4	1.P	++	++	++++	+++	+++	+++	+++
		2.P	+	+	++	++	++	++	+
Käfig MB	MB1	1.P	+++	-	++	-	+	+	-
		2.P	+	-	+	-	-	-	-
	MB2	1.P	+++	+++	++	++	+++	+++	++++
		2.P	++	++	+	+	++	++	++
	MB3	1.P	+	-	+	-	+	+	-
		2.P	-	+	-	+	-	+	-
	MB4	1.P	-	-	-	-	-	-	-
		2.P	-	-	-	-	-	-	-
Käfig MC	MC1	1.P	-	-	-	-	-	-	-
		2.P	-	-	-	-	-	-	-
	MC2	1.P	+	+	+++	++	++	+	+
		2.P	-	-	++	++	+	-	-
	MC3	1.P	++	++	+	+	+++	+++	+
		2.P	+	+	+	++	++	++	+
	MC4	1.P	+++	+++	+++	++	+	+	+
		2.P	+	++	++	++	+	-	+
Käfig MD	MD1	1.P	+	-	++++	++++	+++	++++	++++
		2.P	-	-	++	+	++	++	++
	MD2	1.P	+	+	+	+	+	++++	++
		2.P	-	+	-	-	-	++	+
	MD3	1.P	++	++	+	+	+	+	-
		2.P	+	++	+++	+	-	-	-
	MD4	1.P	++	+	-	-	++++	++	+
		2.P	-	+	-	-	+++	+	-

MA, MB, MC, MD: männliche Tiere in Gruppen A, B, C und D

1.P: erste Probe vor der Reinigung des Perianalbereiches

2.P: zweite Probe unmittelbar nach der Reinigung des Perianalbereiches

**Bewertung:**

- keine *S. muris*-Eier in der Probe
- + weniger als 10 *S. muris*-Eier in der Probe
- ++ mehr als 10 *S. muris*-Eier gut verteilt in der Probe
- +++ mehr als 10 *S. muris*-Eier in einem Gesichtsfeld der Probe
- ++++ mehr als 10 *S. muris*-Eier in mehreren Gesichtsfeldern der Probe
- W Würmer in der Probe gefunden

**Tabelle 6.7:** Kontrolle der Wirksamkeit des eingesetzten Medizinalfutters in Bezug auf die *S. muris*-Eiausscheidung. S1-S10 sind die *S. muris* positiven Ratten, welche im selben Haltungsraum in Typ 3 Makrolon Käfigen einzeln gehalten wurden.

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
10.04.2006	+	++	+++	++	++	++	+++	++	+++	++
11.04.2006	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+
12.04.2006	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+
13.04.2006	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
14.04.2006	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<b>15.04.2006</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18.04.2006	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19.04.2006	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21.04.2006	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28.04.2006	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Bewertung:**

- keine *S. muris*-Eier in der Probe
- + weniger als 10 *S. muris*-Eier in der Probe
- ++ mehr als 10 *S. muris*-Eier gut verteilt in der Probe
- +++ mehr als 10 *S. muris*-Eier in einem Gesichtsfeld der Probe
- ++++ mehr als 10 *S. muris*-Eier in mehreren Gesichtsfeldern der Probe
- W Würmer in der Probe gefunden

**Tabelle 6.8:** Die Vorbereitung und die Zusammensetzung des Puffers I

## ELISA Puffer I

Molekular Formel	Name der Substanz	Molekular Gewicht	Konzentration	pH	Auftrags Nr.
NaHCO <sub>3</sub>	Natriumbikarbonat	84.01	0,1 M / 8.4g/l	8.3	Fluka 71628
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Natriumkarbonat	105,99	0,1M / 10,6 g/l	11.0	Fluka 71351
mischen, bis pH 9.6					
NaN <sub>3</sub>	Natriumazid ( <b>giftig</b> )	65,01	200 mg/l		Fluka 71289

Filter keimfreie Lösung (0.22 µm Filter)

**Beschriftung:** Buffer I

**Lagerung:** In Glasflaschen, bei 4°C, 3 Monate (max.)

**Kriterien für Qualitätskontrolle:** Farblose, klare Lösung, pH 9.6

**Tabelle 6.9:** Die Vorbereitung und die Zusammensetzung der ELISA Waschlösung

## ELISA Waschlösung

Molekular Formel	Name der Substanz	Molekular Gewicht	Konzentration	Auftrags Nr.
NaCl	Natriumchlorid	58,44	45.0 g	Fluka 71381
Tween20	Tween20		15 ml	Fluka 93773
H <sub>2</sub> O dest	ad 5000 ml			-

Gut mischen

**Beschriftung:** ELISA-washing solution

**Lagerung:** In Glas- oder Plastikflaschen, bei Raumtemperatur, 1 Monat maximal!

**Kriterien für Qualitätskontrolle:** Farblose, klare Lösung



**Tabelle 6.10: Die Vorbereitung und die Zusammensetzung des Puffers II**

## **ELISA Puffer II**

Komponenten		Auftrags Nr.	Siehe auch
PBS 1X	1000 ml		<b>PBS Arbeits-Lösung</b>
Tween 20	3 ml	Fluka 93773	
NaN <sub>3</sub>	200 mg/l	Fluka 71289	
Bovines Hämoglobin	500 mg	Fluka 51290	

Sorgfältig mischen

**Beschriftung:** Buffer 2V

**Lagerung:** In Glasflaschen, bei 4°C, 3 Monate (max.)

**Kriterien für Qualitätskontrolle:** Klare, hellbraune Lösung

## **PBS Arbeits-Lösung**

### **Komponenten und Richtlinien**

<b>PBS 5X</b>	1 Teil	200 ml	
H <sub>2</sub> O dest	4 Teile	800 ml	

Sorgfältig mischen, pH an 7.2 (HCl Konz.) angleichen

**Beschriftung:** 1 x PBS

**Lagerung:** In Glasflaschen, bei Raumtemperatur, 3 Monate (max.)

**Kriterien für Qualitätskontrolle:** Klare, farblose Lösung

**Abfallentsorgung:** Anwendung der örtlichen Abfallentsorgungs-Vorschriften

**Komponenten und Richtlinien:** Anwendung der örtlichen Abfallentsorgungs-Vorschriften

## PBS 5X Vorrats-Lösung

### Komponenten und Richtlinien

Molekular Formel	Name der Substanz	Molekular Gewicht			Auftrags Nr.
NaCl	Natriumchlorid	58,44	40 g	80.0	Fluka 71381
KCl	Kaliumchlorid	74,55	1.0 g	2.0	Fluka 60130
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x2H <sub>2</sub> O	Natriumphosphat dibasic Dihydrat	177,99	5.8g	11.6	Fluka 71644
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Kaliumphosphat monobasic	136,09	1.0 g	2.0	Fluka 60220
MgCl <sub>2</sub> x6H <sub>2</sub> O	Magnesiumchlorid Hexahydrat	203,30	0.5 g	1.0	Fluka 63064
H <sub>2</sub> O dest			ad 1 l	ad 2 l	

**Beschriftung:** 5 x PBS

**Lagerung:** In Plastik- oder Glasflaschen, bei Raumtemperatur, 3 Monate (max.)

**Kriterien für Qualitätskontrolle:** Klare, farblose Lösung

**Abfallentsorgung:** Anwendung der örtlichen Abfallentsorgungs-Vorschriften

**Tabelle 6.11: Die Vorbereitung und die Zusammensetzung des Puffers III**

### ELISA Puffer III

Molekular Formel	Konzentration	
NaHCO <sub>3</sub>	0,1 M / 8.4g/l	Frisch vorbereiten
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,1M / 10,6 g/l	Frisch vorbereiten
Mischen, bis pH 9.8		
H <sub>2</sub> O dest	Gleiche Volumen zufügen wie NaHCO <sub>3</sub> + Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	
1 M MgCl <sub>2</sub>	1 ml / 1000 ml	<b>Magnesiumchlorid</b>

Sorgfältig mischen

**Beschriftung:** Buffer 3

**Lagerung:** In Glasflaschen, bei 4°C, 3 Monate (max.)

**Kriterien für Qualitätskontrolle:** Klare, farblose Lösung

### Magnesiumchlorid

Molekular Formel	Name der Substanz	Molekular Gewicht	Konzentration	Auftrags Nr.
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	Magnesiumchlorid hexahydrate	203,31	1 .0 M / 20,33 g	Fluka 63068
H <sub>2</sub> O dest			100 ml	

Gut mischen

**Beschriftung:** MgCl<sub>2</sub> 1M

**Lagerung:** In Glasflaschen, bei Raumtemperatur, 36 Monate

**Kriterien für Qualitätskontrolle:** Klare, farblose Lösung

## 7 LITERATURVERZEICHNIS

Alexander J, Stimson WH (1988): Sex hormones and the course of parasitic infection. *Parasitology Today* 4, 189-193.

Battles AH, Adams SW, Courtney CH (1987): Efficacy of Ivermectin against natural infection of *Syphacia muris* in rats. *Laboratory Animal Science* 37, 791-792.

Beck W (2004): Häufige Endo- und Ektoparasiten bei kleinen Heimsäugern, Klinik, Diagnostik und Therapie. *Tierärztliche Praxis* 32(K), 311-321.

Baker DG (1998): Natural Pathogens of Laboratory Mice, Rats, and Rabbits and Their Effects on Research. *Clinical Microbiology Reviews* 11, 231-266.

Barlow SC, Brown MM, Price HV (2005): Eradication of *Syphacia muris* from Food-Restricted Rats without Environmental Decontamination. *Laboratory Animal Science* 44, 23-25.

Barron S, Baseheart BJ, Segar TM, Deveraux T, Willford JA (2000): The behavioral teratogenic potential of fenbendazole: a medication for pinworm infestation. *Neurotoxicology and Teratology* 22, 871-877.

Boot R, Homberger F, Illgen-Wilcke B, Jakobi K, Kraft V, Kunstyr I, Meyer H, Nicklas W, Pfister R, Scharmann W, Stünkel S, Zillmann U (1999): Prophylaktische und therapeutische Massnahmen bei Infektionen von Nagern und Kaninchen. Ausschuss für Hygiene der Gesellschaft für Versuchstierkunde Society for Laboratory Animal Science GV-SOLAS.

Bugarski D, Jovcic G, Katic-Radivojevic S, Petakov M, Krstic A, Stojanovic N, Milenkovic P (2005): Hematopoietic changes and altered reactivity to IL-17 in *Syphacia obvelata*-infected mice. *Parasitology International* 55(2), 91-97.

Campbell WC, Fisher MH, Stapley EO, Albers-Schönberg G, Jacob TA (1983): Ivermectin: A Potent New Antiparasitic Agent. *Science* 221, 823-828.

Carlberg KA, Lang BZ (2004): Infection with Pinworms (*Syphacia obvelata*) does not affect the plasma corticosterone concentration in male, nonpregnant female and pregnant female rats. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science* 43 (3), 46-49.

Chowaniec W, Wescott RB, Congdon LL (1972): Interaction of *Nematospiroides dubius* and influenza virus in mice. *Experimental Parasitology* 32(1), 33-44.

Clarke CL, Perdue KA (2004): Detection and clearance of *Syphacia obvelata* infection in Swiss Webster and athymic nude mice. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science* 43(3), 9-13.

Coghlan LG, Lee DR, Psencik B, Weiss D (1993): Practical and Effective Eradication of Pinworms (*Syphacia muris*) in Rats by Use of Fenbendazole. *Laboratory Animal Science* 43, 481-487.

Dalvi RR (1989): Comparative Studies on the Effect of Fenbendazole on the liver and liver microsomal enzymes in goats, quail and rats. *Veterinary Research Communications* 13, 135-139.

Derothe JM, Loubés C, Orth A, Renaud F, Moulia C (1997): Comparison between Patterns of Pinworm Infection (*Aspiculuris tetraptera*) in Wild and Laboratory Strains of Mice, *Mus musculus*. *International Journal for Parasitology* 27, 645-651.

Dix J, Astill J, Whelan G (2004): Assessment of methods of destruction of *Syphacia muris* eggs. *Laboratory Animals* 38(1), 11-16.

Düwel D (1977): Fenbendazole II. Biological Properties and Activity. *Pestic Science* 8, 550-555.

Eckert J, Kutzer E, Rommel M, Bürger HJ, Körting W (1992): *Veterinärmedizinische Parasitologie*. 4. Auflage. Verlag Paul Parey. Berlin, Hamburg.

Effler C, Cartner SC, Hickman-Davis J, Juliana M, Gibbs-Erwin J, Schoeb T (2006): Comparison of Detection Methods for *Syphacia* in Rodent Research Colonies. Final Program of 57th AALAS National Meeting in Salt Lake City.

Franke D, Shirwan H (2006): Prophylactic fenbendazole therapy does not affect the incidence and onset of type 1 diabetes in non – obese diabetic mice. *International Immunology* 18, 453-458.

Gärtner K (1991): Qualitätskriterien der Versuchstierforschung, Ergebnisse aus dem Sonderforschungsbereich „Versuchstierforschung“ der Medizinischen und der Tierärztlichen Hochschule Hannover. VCH, Weinheim.

Goeters W (1952): Untersuchungen an Enterobien. Das Infektionsgeschehen bei der menschlichen Enterobiasis unter besonderer Berücksichtigung biologischer Gesichtspunkte. *Zeitschrift für Tropenmedizin und Parasitologie* 3, 508-537.

Gottstein B, Deplazes P, Arnold P, Mehlitz D, Reiter I, Eckert J (1988): Immundiagnose der Leishmaniose des Hundes mit ELISA und Mini-Western-Blot. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 130, 249-262.

Hasslinger MA, Hörhammer W (1971): Das Auftreten von Oxyuren und Darmflagellaten bei Laboratoriumsmäusen und –ratten. *Tierärztliche Umschau* 26, 158-162.

Hasslinger MA, Wiethe T (1987): Zum Oxyurenbefall kleiner Labortiere und seiner Bekämpfung mit Ivermectin. *Tierärztliche Praxis* 15, 93-97.

Hugot JP, Gardner SL, Morand S (1996): The Enterobiinae Subfam. Nov. (Nematoda, Oxyurida) Pinworm Parasites of Primates and Rodents. *International Journal for Parasitology* 26(2), 147-159.

Hugot JP (1999): Primates and Their Pinworm Parasites: The Cameron Hypothesis Revisited. *Systematic Biology* 48(3), 523-546.

Huerkamp MJ, Benjamin KA, Zitzow LA, Pullium JK, Lloyd JA, Thompson WD, Webb SK, Lehner ND (2000): Fenbendazole Treatment Without Environmental Decontamination Eradicates *Syphacia muris* From All Rats in a Large, Complex Research Institution. *Laboratory Animal Science* 39, 9-12.

Huerkamp MJ, Benjamin KA, Webb SK, Pullium JK (2004): Long-Term Results of Dietary Fenbendazole to Eradicate *Syphacia muris* from Rat Colonies. *Laboratory Animal Science* 43, 35-36.

Jacober P, Ochs H, Risi J, Deplazes P (2004): Ausbrüche von Schafräude auf zwei benachbarten Grossalpen im Kanton Schwyz. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 146, 61-69.

Jacobsen RH, Reed ND (1974): The thymus dependency of resistance to pinworm infection in mice. *Journal of Parasitology* 60, 976-979.

Kamiya M, Oku Y, Itoh T, Kagiya N, Iwai H (1979): Parasitological survey on four barrier-sustained mouse and rat colonies. *Exp. Anim.* 28(3), 409-413.

Karen AC, Bruce ZL (2004): Infection with Pinworms (*Syphacia obvelata*) does not affect the plasma corticosterone concentration in male, nonpregnant female, and pregnant female Rats. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science* 43(3), 46-49.

Kayser et al. (2005): Taschenlehrbuch medizinische Mikrobiologie (11. Auflage). Thieme Verlag. Stuttgart.

Keen RG, Maccinis MLM, Guilhardi P, Chamberland KA, Church RM (2005): The Lack of Behavioral Effects of Fenbendazole: A Medication for Pinworm Infection. *Laboratory Animal Science* 44, 17-23.

Klement P, Augustine JM, Delaney KH, Klement G, Weitz JI (1996): An Oral Ivermectin Regimen That Eradicates Pinworms (*Syphacia sp.*) in Laboratory Rats and Mice. *Laboratory Animal Science* 46, 286-290.

Kraft V, Deeny A, Blanchet HM, Boot R, Hansen AK, Hem A, van Herck H, Kunstry I, Milite G, Needham JR, Nicklas W, Perrot A, Rehbinder C, Richard Y, De Vroey G. (1995): Empfehlungen zur Gesundheitskontrolle von Mäusen-, Ratten-, Hamster-, Meerschweinchen- und Kaninchenzuchten, GV-SOLAS Hygieneausschuss, Januar 1995.

Kraft W, Dürr UM (1997): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, 4. Auflage Verlag: Schattauer. Stuttgart.

Lankas GR, Minsker DH, Robertson RT (1989): Effects of Ivermectin on reproduction and neonatal toxicity in rats. Food and Chemical Toxicology 27, 523-529.

Lewis JW, D`Silva J (1986): The life-cycle of *Syphacia muris* Yamaguti (Nematoda: Oxyuroidea) in the laboratory rat. Journal of Helminthology 60, 39-46.

Lübcke R, Hutcheson F, Barbezat G (1992): Impaired Intestinal Electrolyte Transport in Rats Infested with the Common Parasite *Syphacia muris*. Digestive Diseases and Sciences 37, 60-64.

Maess J, Kunstyr I (1981): Diagnose und Bekämpfung häufiger Parasiten bei kleinen Versuchstieren (2). Tierärztliche Praxis 9, 381-388.

Matsuzawa T (1986): A review of oxyurids in laboratory rats, and their eradication by anthelmintics:-observations on the susceptibility of different rat-strains for *Syphacia muris*. Animal Technology 37, 25-36.

Mohn G, Philipp EM (1981): Effects of *Syphacia muris* and the antihelmintic fenbendazole on the microsomal monooxygenase system in mouse liver. Laboratory Animals 15(2), 89-95.

MSD (Merck Sharp and Dohme) (1988): Poison Control Monograph. Ivermectin. Division of Merck and Co Ltd, West Point, Pennsylvania.

Nicklas W, Le Corre R, Graw J (1984): Erfahrungen mit Fenbendazol bei der Therapie von Oxyureninfektionen in einem Versuchstierbestand. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 97, 21-24.

Nicklas W, Homberger FR, Illgen-Wilcke B, Jacobi K, Kraft V, Kunstry I, Mähler M, Meyer H, Pohlmeier-Esch G (1999): Implications of infectious agents on results of animal experiments. Laboratory Animals 33(1), 39-81.

Nicklas W, Baneux P, Boot R, Decelle T, Deeny A.A, Fumanelli M, Illgen-Wilcke B (2002): Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units. Laboratory Animals 36(1), 20-42.

Oege H, Ayaz E, Ide T, Dalgiç S (1999): The effect of doramectin, moxidectin and netobimin against natural infections of *Syphacia muris* in rats. Veterinary Parasitology 88, 299-303.

Ostlind DA, Nartowicz MA, Mickle WG (1985): Efficacy of ivermectin against *Syphacia obvelata* (nematode) in mice. Journal of Helminthology 59, 257-261.

- Panchev N, Globokar-Vrhovec M, Beck W (2005): Endoparasiten bei Kleinsäugern aus privater Haltung und Igeln. Labordiagnostische Befunde der koprologischen, serologischen und Urinuntersuchung (2002-2004). *Tierärztliche Praxis* 33(K), 296-306.
- Poul JM (1988): Effects of perinatal Ivermectin exposure on behavioural development of rats. *Neurotoxicology and Teratology* 10, 267-272.
- Pritchett KR, Johnston NA (2002): A review of treatment for the eradication of pinworm infections from laboratory rodent colonies. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science* 41(2), 36-46.
- Ross CR, Wagner JE, Wightman SR, Dill SE (1980): Experimental transmission of *Syphacia muris* among rats, mice, hamsters and gerbils. *Laboratory Animal Science* 30, 35-37.
- Sasa M, Tanaka H, Fukui M, Takata A (1962): Internal Parasites of Laboratory Animals. In: *The Problems of Laboratory Animal Disease* (ed. By R.J.C. HARRIS) Academic Press, London-New York, pp.195-214.
- Sato Y, Ooi HK, Nonaka N, Oku Y, Kamiya M (1995): Antibody Production in *Syphacia obvelata* infected mice. *Journal of Parasitology* 81(4), 559-562.
- Shi-Xin X, Ding Z, Yu-Mei S, Shu-Huai W, Li-Qing S, Qi-Yi H, De-Lin X (1992): Subchronic Toxicity Studies of Fenbendazole in Rats. *Veterinary and Human Toxicology* 34(5), 411-413.
- Shoda T, Onodera H, Takeda M, Uneyama C, Imazawa T, Takegawa K, Yasuhara K, Watanabe T, Hirose M, Mitsumori K (1999): Liver tumor promoting effects of fenbendazole in rats. *Toxicological Parasitology* 27, 553-562.
- Short CR, Flory W, Hsieh LC, Barker A (1988): The oxidative metabolism of fenbendazole: a comparative study. *Journal of Veterinary .Pharmacology and Therapeutics* 11, 50-55.
- Shoup B (2001): Diagnosis and management of pinworm infection. *Primary Care Update for Ob/GYNS*. 8(6), 240-243.
- Silveira AC, Gilioli R, Oliveira S, Bassani RA (2003): Subsensitivity to beta-adrenergic stimulation in atria from rats infested with *Syphacia sp.* *Laboratory Animals* 37(1), 63-67.
- Sparrow S (1976): The microbiological and parasitological status of Laboratory animals from accredited breeders in the United Kingdom. *Laboratory Animals* 10(4), 365-373.
- Stahl W (1963): Studies on the life cycle of *Syphacia muris*, the rat pinworm. *Keio Journal of Medicine* 12, 55-60.



Strasser H, Tiefenbach B (1976): Erfahrungen mit Fenbendazol bei der Bekämpfung von *Syphacia muris* in einer Rattenzucht. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 83, 169-262.

Sueta T, Miyoshi I, Okamura T, Kasai N (2002): Experimental Eradication of Pinworms (*Syphacia obvelata* and *Aspiculuris tetraptera*) from Mice Colonies Using Ivermectin. Exp Anim 51(4), 367-373.

Taffs LF (1976): Pinworm infections in laboratory rodents. Laboratory Animals 10(1), 1-13.

Tierarzneimittelkompendium der Schweiz 2006/2007, 7. Ausgabe.

Van den Bossche H, Schaper J, Borgers M (1971): Some aspects of the carbohydrate metabolism of *Syphacia muris*, the rat pinworm. Comparative Biochemistry and Physiology 38B, 43-52.

Van der Gulden WJL (1967): Diurnal Rhythm in Egg Production by *Syphacia muris*. Experimental Parasitology 21, 344-347.

Wagner M (1988): The Effect of Infection with the Pinworm (*Syphacia muris*) on Rat Growth. Laboratory Animal Science 38, 476-478.

Weiss J, Ernst A (1981): Zur Bekämpfung der Oxyuriasis bei der Laborratte. Versuchstierkunde 23, 337-342.

Weiss J, Maess J, Nebendahl K (2003): Haus- und Versuchstierpflege 2. Auflage Verlag: Enke. Stuttgart.

Wescott RB, Malczewski A, Van Hoosier GL (1976): The influence of filter top caging on the transmission of pinworm infections in mice. Laboratory Animal Science 26(5), 742-745.

WHO Food Additives, Series 29, Fenbendazol.

WHO Food Additives, Series 27, Ivermectin.

Wilkerson JD, Brooks DL, Derby M, Griffey SM (2001): Comparison of Practical Treatment Methods to Eradicate Pinworm (*Dentostomella translucida*) Infections from Mongolian Gerbils (*Meroines unguiculatus*). Contemporary Topics in Laboratory Animal Science 40(5), 31-36.

Wolfensohn S, Lloyd M (1998): Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare, 2. Edition. Verlag: Blackwell Science. London.

Zuk M (1990): Reproductive strategies and diseases susceptibility: an evolutionary viewpoint. Parasitology Today 6 (7), 231-233.

## Danksagungen

### *Mein herzlicher Dank geht an...*

Prof. Dr. Kurt Bürki für sein Referat und seine freundliche Unterstützung.

Prof. Dr. Peter Deplazes für sein Korreferat.

Dr. Gregor Fischer für seine Betreuung.

Dr. Richard Weilenmann für die Überlassung des Themas.

Dr. Brunhilde Illgen-Wilcke für die kompetente Beratung und Überlassung einiger Parasiten.

Die Firma F. Hoffmann - La Roche Ltd, Basel für die finanzielle Unterstützung.

Frau Isabelle Tanner für ihre serologischen Untersuchungen.

Frau Muriel Brecheisen und Anita Reist für ihre moralische Unterstützung.

Frau Veronika Udry für ihre sprachliche Unterstützung.

Frau Ramona Dettwiler, Andrea Poživil, Nathalie Ladani und Sandra Beckert für ihre tatkräftige Unterstützung meiner Arbeit.

Meinen Eltern und Geschwistern für die moralische Unterstützung.

Nicht zuletzt meiner Frau Hatun und meinen Kindern Asena Berfin und Cesur Leon für die Unterstützung und Geduld während der Dissertation.

## **Lebenslauf**

Name	Aziz Cetinsu
Geburtsdatum	02. Januar 1975
Geburtsort	Yildizeli (Türkei)
Wohnort	CH - 4460 Gelterkinden, Rickenbacherstrasse 30

## **Ausbildung**

1981 – 1986	Primarschule in Sivas, TR
1986 – 1989	Mittelschule in Sivas, TR
1989 – 1992	Gymnasium in Sivas, TR
1992 – 1997	Studium der Veterinärmedizin an der Universität Istanbul, TR
1997	Approbation als Tierarzt, TR
1997 – 1999	Deutschkurs in Basel
1999 – 2001	Studium der Veterinärmedizin an der Universität Zürich
2001	Approbation als Tierarzt, CH
2006 – 2007	Dissertation am Institut für Labortierkunde der Universität Zürich